

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті

ӘОЖ 547:57

Қолжазба құқығында

**ТОҚТАРБЕК МЕРУЕРТҚОЖА**

***Petrosimonia* өсімдігінің кейбір түрлерінен биологиялық белсенді кешен алу жолын ұсыну**

6D072100 – Органикалық заттардың химиялық технологиясы

Философия докторы (Ph.D.) дәрежесін алу үшін дайындалған диссертация

Отандық ғылыми жетекші  
х.ғ.д., профессор Бурашева Г.Ш.

Шетелдік ғылыми жетекші  
Dr. Prof. M.I. Choudhary  
Карачи, Пәкістан

Қазақстан Республикасы  
Алматы, 2023

## МАЗМҰНЫ

<b>НОРМАТИВТІК СІЛТЕМЕЛЕР</b>	4
<b>АНЫҚТАМАЛАР, БЕЛГІЛЕУЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР</b>	5
<b>КІРІСПЕ</b>	7
<b>1 ӘДЕБИЕТТЕРГЕ ШОЛУ</b>	11
1.1 Табиғи қосылыстар және дәрілік заттардың ашылуы	11
1.2 Алабұта тұқымдас ( <i>Chenopodiaceae</i> ) өсімдіктердің сипаттамасы және олардың таралуы.	13
1.3 <i>Petrosimonia sibirica</i> өсімдігінің химиялық құрамы	17
1.4 Кумар қышқылы және оның туындыларының сипаттамалары	18
1.5 Аллантоин, табиғи көздерден бөлінуі және биологиялық маңызы	21
1.6 Әр түрлі өсімдік шикізаттарынан кумар қышқылының амидті туындыларын бөлу және тазарту әдістері	23
1.6.1 Өсімдік шикізаттарын өңдеуде қолданылатын әдістер	23
1.6.2 Кумар қышқылының амидті туындыларын бөлу және тазарту әдістері	25
1.7 Кумар қышқылының амидті туындыларының биологиялық белсенділіктері	30
1.8 Препараттық жоғары эффективті сұйықтық хроматография (ПЖЭСХ) принциптері	33
1.8.1 Препараттық ЖЭСХ-ға кіріспе	33
1.8.2 Препараттық ЖЭСХ -дағы бағананың рөлі	34
1.8.2.1 Препараттық хроматографияда сәйкес режимді және стационарлық фазаны таңдау	35
1.8.2.2 Бөлшектер мен бағана өлшемдері	36
1.8.2.3 Жылжымалы фазаны таңдау	37
1.8.2.4 Препараттық хроматографияны сәтті пайдалану	37
1.8.3 ЖЭСХ-ны тазалау жүйесі және детекторлар	38
1.8.3.1 ЖЭСХ-ны қалпына келтіру үшін жүйені оңтайландыру	39
1.8.4 ЖЭСХ, фракцияларды жинау стратегиялары	39
1.8.5 ЖЭСХ, қолданбалы шешімдер	41
1.9 Жоғары критикалық флюиді СО <sub>2</sub> – экстракцияның жетістіктері мен қолданылуы	42
1.10 Жоғарыкритикалық жағдайға дейінгі және кейінгі экстракция айырмашылығы	45
<b>2 ТӘЖІРИБЕЛІК БӨЛІМ</b>	49
2.1 Зерттеу материалдары	49
2.2 Зерттеу әдістері	50
2.2.1 Хроматография	50
2.2.1.1 Қолданылған еріткіштер жүйесі	50
2.2.1.2 Жұқа қабатты хроматография (ЖҚХ)	50
2.2.1.3 Бағаналы хроматография	51

2.2.1.4 Жоғары критикалық флюиді СО <sub>2</sub> - экстракция	52
2.2.2 Оқшауланған заттарды құрылымдық талдау	52
2.2.3 Өсімдік шикізатының шынайлығы мен биологиялық белсенді заттардың сандық мөлшерін анықтау	52
2.2.4 Биологиялық белсенді заттарды экстракциялау және бөлу	52
2.2.4.1 Гексан экстрактісінен биологиялық белсенді заттарды бөлу	54
2.2.4.2 Дихлорметан экстрактісінен биологиялық белсенді заттарды бөлу	55
2.2.4.3 Этилацетат экстрактісінен биологиялық белсенді заттарды бөлу	56
2.2.4.4 Бутанол экстрактісінен биологиялық белсенді заттарды бөлу	58
2.3 Бактерияға және қабынуға қарсы биологиялық белсенді кешен алу мен биоскрининг жасау үрдісі	60
2.3.1 Бактерияға қарсы белсенділікті талдау үрдісі	61
2.3.2 Қабынуға қарсы белсенділікті талдау үрдісі	61
2.3.2.1 Мембрананы тұрақтандыру әдісі	61
2.3.2.2 Индукцияланған гипотоникалық ерітінді геомолизі	62
2.4 Статистикалық талдау	62
<b>3 ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ</b>	<b>63</b>
3.1 <i>Petrosimonia</i> өсімдіктерінің шынайылық көрсеткіштері мен негізгі биологиялық белсенді заттар топтарының сапалық және сандық құрамын сараптау	63
3.2 Биологиялық белсенді қосылыстар кешенін алу және бөлудің блок-жүйесін ұсыну	69
3.2.1 Өсімдік шикізатынан мацерация әдісі арқылы бактерияға және қабынуға қарсы фитопрепарат алу	70
3.3 Биологиялық белсенді қосылыстарды бөлу және идентификациялау	78
3.3.1 <i>Petrosimonia</i> өсімдігіндегі алканол мен 4-гидроксибенетил тетрадекан қышқылын идентификациялау	78
3.3.2 <i>Petrosimonia</i> өсімдігіндегі стероидтарды идентификациялау	80
3.3.3 <i>Petrosimonia</i> өсімдігіндегі фенол қышқылдары және флавоноидтарды идентификациялау	88
3.3.4 <i>Petrosimonia</i> өсімдігіндегі алкалоидтарды идентификациялау	103
<b>4 PETROSIMONIA TRIANDRA ӨСІМДІГІНЕН АЛЫНҒАН ФИТОПРЕПАРАТТАРДЫҢ</b>	
<b>БИОЛОГИЯЛЫҚ</b>	
<b>БЕЛСЕНДІЛІКТЕРІ</b>	<b>118</b>
<b>ҚОРЫТЫНДЫ</b>	<b>120</b>
<b>ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ</b>	<b>122</b>
<b>ҚОСЫМШАЛАР</b>	<b>132</b>

## НОРМАТИВТІК СІЛТЕМЕЛЕР

Бұл диссертациялық жұмыста төмендегі стандарттарға сәйкес сілтемелер колданылды:

МЕМСТ 24027.1-80 Дәрілік өсімдік шикізаты. Шынайылығын, камба зиянкестерімен бұзылмағандығын, ұнтақталуын және қоспаның құрамын зерттеу әдістері.

МЕМСТ 24027.2-80 Дәрілік өсімдік шикізаты. Өсімдіктің ылғалдылығын, күлінің, экстрактивті және тері илегіш заттардың, эфир майларының құрамын анықтау әдістері.

МЕМСТ 7.32-2001 Халықаралық стандарттар. Ақпарат, кітапхана және баспа ісі мәліметтері жөніндегі стандарттар жүйесі. Ғылыми-зерттеу жұмыстары бойынша есеп беру. Жобалаудағы ережелер мен келтірулер.

МЕМСТ 7.1-2003 талаптарына сәйкес келу қажет «Библиографиялық жазба. Библиографиялық баяндама. Жалпы талаптар мен құрастыру ережелері».

МЕМСТ 6.38-90 Құжаттар жүйесін сәйкестендіру. Ұйымдық-өкімдік құжаттама жүйесі. Құжаттарды дайындау талаптары.

МЕМСТ 8.417-81 Өлшем бірліктерді камтамасыз етудің мемлекеттік жүйесі. Физикалық шамалардың өлшем бірліктері.

МЕМСТ 1770-74 Өлшеуіш лабораториялық шыны ыдыс. Цилиндрлер, мензуркалар, колбалар, пробиркалар. Жалпы техникалық шарттары,

МЕМСТ 24104-88 Лабораториялық, жалпылама қолдануға арналған және үлгі таразылар. Жалпы техникалық шарттары.

МЕМСТ 25336-82 Лабораториялық шыны ыдыстар мен кондырғылар. Типтері, негізгі параметрлер мен өлшемдер.

## АНЫҚТАМАЛАР, БЕЛГІЛЕУЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР

**Бактерияға қарсы:** Бактериялар тудыратын инфекцияларды емдеу үшін қолданылатын препарат немесе қосылыстар (сығындылар немесе таза қосылыстар).

**Қабынуға қарсы:** Ісінуді және ауырсынуды азайту үшін қолданылатын сынақ үлгісінің қабілеті (таза қосылыс, хроматографиялық фракция немесе сығындылар).

**Биологиялық белсенді қосылыстар:** Кез келген табиғи жолмен өндірілетін төмен молекулалы заттар мен метаболиттер тобын құрайтын ағзаға емдік мақсатта нақты қолданылатын биологиялық әсері бар өнімдер.

**Биосинтез:** Біріншілік және екіншілік метаболиттердің ағзада синтезделуі.

**Химиялық ығысу:** Ядроның прецессиялық ішкі тасымалдаушы жиілігі арасындағы стандартты ығысу айырмашылығы (TMS). Ол ppm арқылы өлшенеді және « $\delta$ » бойынша көрсетіледі.

**TMS:** Тетраметилсилан - органикалық еріткіштердегі химиялық ығысуларды калибрлеуге арналған  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  және  $^{29}\text{Si}$  ЯМР спектроскопиясы үшін ішкі стандарт (мұнда TMS ериді).

**$^{13}\text{C}$ -ЯМР:** Қосылыстың химиялық құрылымындағы барлық көміртектің туралы ақпарат беретін маңызды 1D-ЯМР әдісі.

**$^1\text{H}$ -ЯМР:** Бұл химиялық заттардың құрылымындағы протондардың әртүрлі түрлері туралы мәліметтерді толық беретін маңызды 1D-ЯМР техникасы, ол химиялық ығысулар және  $J$  мәндері арқылы протондардың интеграциясын береді.

**$J$  мәні:** Протондар жұбының өзара әрекеттесуінің герцпен (Гц) жазылған өлшемі.

**DEPT:** Төртіншілік көміртектің қоспағанда зат құрылымындағы мүмкін болатын көміртегі резонанстары метил ( $\text{CH}_3$ ), метин ( $\text{CH}$ ) және метилен ( $\text{CH}_2$ ) сигналдары туралы ақпарат беретін  $^{13}\text{C}$ -ЯМР техникасы.

**$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY:** Айналдыру жүйесінде геминалды және вицинальды  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  әрекеттесулерін бірдей анықтауда қолданылатын гомонуклеарлық 2D-ЯМР әдісі.

**HMBC:** Молекуланың ішінде әртүрлі фрагменттердің байланысы туралы мәлімет беретін екі өлшемді гетеронуклеарлық кері әдіс. Ол протонның көршілес, сондай-ақ 2-ден 3-ке дейінгі байланыстары алыс оңай байқалатын көміртегі атомдарының ұзақ қашықтығы туралы ақпарат береді.

**HSQC:** Сутектер мен көміртектің бір байланыс корреляциялары туралы мәлімет беретін екі өлшемді гетеронуклеарлық кері ЯМР әдісі.

**NOESY:** Кеңістікте жақын орналасқан протондар арқылы молекулалардың стереохимиясын анықтау үшін қолданылатын (салыстырмалы конфигурация) гомонуклеарлық екі өлшемді ЯМР спектроскопиясы,

протондардың қамтамасыз етілген арақашықтықтары 5-6 Å диапазонында болуы керек.

**EI-MS:** Салыстырмалы түрде полярсыз және төмен молекулалық қосылыстар үшін қолданылатын төмен ажыратымдылықтағы масс-спектрометриялық әдіс. Бұл әдістеде үлгіні иондау үшін 70 эв -лік сәуле қолданылады және молекулалардың кең бөлінуіне әкеледі.

**ESI-MS:** Электроспрейді иондау - аэрозоль жасау үшін сұйықтыққа жоғары кернеу көмегімен электроспрейді пайдаланып, иондарды алу үшін масс-спектрометрияда қолданылатын әдіс.

**HRMS:** Массасы молекулалық формуланы есептеу үшін анықталатын нақты молекулалық масс-спектрометриялық әдіс.

**DPPH:** Тұрақты бос радикалы бар қара түсті кристалды ұнтақ. Ол әдетте қосылыстардың бос радикалдарды тазарту қабілетін бағалау немесе сутегі доноры ретінде әрекет ету үшін қолданылады, сондай-ақ ұлпа сығындыларындағы тотығу үдісіннің белсенділігін өлшейді.

**IC<sub>50</sub>:** Берілген биологиялық үрдісті тежеу үшін қажет белгілі бір препараттың немесе басқа қосылыстың жартылай концентрациясы (ингибитор) (немесе үрдістің құрамдас бөлігі, яғни фермент, жасуша, жасуша рецепторы немесе микроағза).

**In-vitro:** (латынша атауы: шыны ішінде) Дәрілік заттар немесе сығындыларға микроағзалар, жасушалар немесе ферменттер арқылы тірі ағзадан тыс зерттеулер жүргізу.

БХ	- бағаналы хроматография
д	- дублет
дд	- дублет-дублет
ЖЭСХ	- жоғары эффективті сұйықтық хроматография
ЖҚХ	- жұқа қабатты хроматография
ИҚ	- инфра қызыл
КФЖҚХ	- кері фазаланған жұқа қабатты хроматография
ҚХ	- қағазды хроматография
м	- мультиплет
ПЖҚХ	- препараттық жұқа қабатты хроматография
ПЖЭСХ	- препараттық жоғары эффективті сұйықтық хроматография
с	- синглет
сг	- силикагель
т	- триплет
УК	- ультра күлгін

## КІРІСПЕ

**Жұмыстың жалпы сипаттамасы.** Дисертациялық жұмыс Алабұталар (*Chenopodiaceae*) тұқымдасына жататын *Petrosimonia triandra*, *Petrosimonia glaucescens*, *Petrosimonia brachiata* және *Petrosimonia sibirica* өсімдіктерінен биологиялық белсенді кешендердің химиялық құрамын сараптауға, кешендерді алуға және қосылыстарды бөлуде оңтайлы жолды қарастыруға, жеке заттардың құрылымын дәлелдеуге, кешендер мен жеке қосылыстардың биологиялық белсенділігін зерттеу жұмыстарына бағытталған.

**Зерттеу жұмысының өзектілігі.** Адамзат тарихында әлем халықтары тамақтану және ауруларын емдеу үшін өсімдік тектес шикізаттарды пайдаланған. Ол заманда денсаулық сақтау саласы дамымаса да, адамдар өсімдіктердің алуан түрлі қасиеттерін біле отырып, өздерінің денсаулығы үшін дәстүрлі медицинаны қолданған. Еліміздің аумағында өсетін 6000-ға жуық өсімдік түрі бар, солардың аздаған мөлшері халықтың пайдасына жұмсалады. Сондықтан елімізде тамақ өнеркәсібінде және фармацевтика саласында отандық, жоғары эффективті биологиялық белсенді кешендер дайындау негізгі мәселелердің бірі болып отыр.

Бүгінгі күнде Қазақстанда фармацевтика өндірісі толық дамымаған, халық денсаулығы үшін пайдаланылатын дәрі-дәрмектер өзімізде жеткіліксіз болғандықтан әлі күнге дейін импортқа тәуелдіміз. Кейбір препараттардың адам ағзасына әсер ету белсенділігі кейде шамалы және көбі синтезделіп жасалатындықтан, олар ағзадан толық шығарылмайды, бауыр және бүйрек сияқты маңызды ағзаларда жиналады, нәтижесінде адамдардың денсаулығына зиян келеді.

Өсімдік шикізаты фитопрепарат алудың негізгі көзі болғандықтан, өсімдіктің өсетін ортасы, жинау мезгілі және кептіру жағдайы алынатын фитопрепараттың сапасына айтарлықтай әсер етеді. Қазақстан флорасы дәрілік өсімдіктерге өте бай және олардың көбісі зерттеуді қажет етеді. Зерттеу нысаны болып отырған Алабұта тұқымдасына (*Chenopodiaceae*) жататын *Petrosimonia* өсімдігінің 11 түрі, әлемнің көптеген елдерінде кездеседі, ал Қазақстанда 10 түрі өседі. *Petrosimonia* өсімдіктері Қазақстанда ғана емес шет мемлекеттерде де толық зерттелмеген.

Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымының зерттеуі бойынша, әлем халқының шамамен 65% медициналық көмекке дәстүрлі медицинаны қолданады. Бұрыннан ата-бабаларымыз пайдаланып келген дәрілік шөптердің құрамын зерттеп, белсенділігін анықтап, оларды халық денсаулығы үшін пайдалану және халықтық медицинаны жаңғыртып, фармацевтикалық өндірістің мұқтаждығын қамтамасыз ету *өзекті мәселе* болып табылады.

**Мәселенің зерттелу дәрежесі.** Қытайдың солтүстік-батысындағы Шинжаң районында өсетін *Petrosimonia sibirica* түрінің химиялық құрамы мен

биологиялық белсенділігі Wen Sun, 2015-жылы және Ying Wang, 2016-жылы еңбектерінде көрсетілген. Қытай ғалымдарының зерттеулері бойынша бұл өсімдік құрамында стероидтар, алкалоидтар, хинондар, флавоноидтар және фенол қышқылдарының бары анықталып, өсімдіктің бактерияға қарсы белсенділік көрсететіні жазылған. Алайда, *Petrosimonia* өсімдігінің басқа түрлерінің зерттелгені туралы ақпараттың жоқтығы үлкен қызығушылық тудырды, сондықтан 2017-жылдан бастап *Petrosimonia* тұқымдас өсімдіктерден биологиялық белсенді заттарды анықтау және оқшаулау, солардың негізінде фитопрепарат алу бойынша зерттеулер жүргізілуде.

**Зерттеу жұмысының мақсаты.** *Petrosimonia* өсімдігінің кейбір түрлерінен биологиялық белсенді кешен алу жолын ұсыну.

**Жұмыстың мақсатына жету үшін алға қойылған міндеттер:**

- Алабұта (*Chenopodiaceae*) тұқымдасына жататын *Petrosimonia* өсімдігінің *triandra*, *glaucescens*, *brachiata* және *sibirica* түрлерінің негізгі биологиялық белсенді заттарына салыстырмалы сапалық және сандық талдау жүргізу.

- Зерттеліп отырған өсімдіктер құрамындағы биологиялық белсенді кешен (ББК) және қосылыстарды бөліп алудың ғылыми негізі мен технологиялық блок-жүйесін жасауды ұсыну.

- Жеке күйіндегі қосылыстардың құрылымын заманауи физико-химиялық әдістер көмегімен дәлелдеу.

- Алынған экстрактілер, биологиялық белсенді кешендер және жеке қосылыстарды скринингке тапсыру.

**Жұмыстың ғылыми жаңалығы:**

Алғаш рет *Petrosimonia* тұқымдас өсімдіктердің кейбір түрлерінің ауқымды ғылыми-зерттеулері ұсынылып, еліміздің тұзды және сортаң жерлерінде өсетін келесі перспективалы өсімдік түрлері: *Petrosimonia triandra*, *Petrosimonia glaucescens*, *Petrosimonia brachiata* және *Petrosimonia sibirica* анықталды. Зерттелетін түрлердегі биологиялық белсенді заттардың сапалық және сандық құрамының салыстырмалы талдаулары жүргізілді.

Алғаш рет аталған өсімдік түрлерінен биологиялық белсенді кешендерді алу мен бөлудің тиімді технологиясын әзірлеу үшін жоғары критикалық флюидті CO<sub>2</sub> – экстракция және мацерация әдістері қолданылды.

Алғаш рет *Petrosimonia* тұқымдас өсімдіктен 24 зат бөлініп алынды, олардың ішінде N-[(2S)-2-(4-гидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-диметоксифенил)-(2E)-проп-2-енамид әдебиетте келтірілмеген жаңа қосылыс.

Алғаш *Petrosimonia* тұқымдас өсімдіктерден C-18 ODS-H80 адсорбентін қолдану арқылы келесі алкалоидтар бөлінді: N-[(2S)-2-(4-гидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-диметоксифенил)-(2E)-проп-2-енамид, N-цис-ферулоилоктопамин, N-транс-ферулоилоктопамин және N-[2-(3,4-дигидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-диметоксифенил)-проп-2-енамид.

Алғаш рет *Petrosimonia* тұқымдас өсімдіктерден мацерация әдісі арқылы алынған стероидтар, май қышқылдар, полифенолдар және алкалоидтар



негізіндегі екі экстракт (гексан және этилацетат) қабынуға және бактерияға қарсы өте жоғары белсенділік көрсетті.

### **Ғылыми зерттеу жұмысының метрологиялық қамтамасыз етілуі**

*Petrosimonia* өсімдік түрлерінен оқшауланған заттардың құрылымы заманауи әдістер көмегімен жүзеге асырылды: Бір өлшемді:  $^1\text{H}$  ЯМР – AVANCE NEO-400, AVANCE NEO-500 де 400, 500 MHz және  $^{13}\text{C}$  ЯМР - AVANCE NEO-400, AVANCE NEO-500 де 100, 125 және 150 MHz; BB, DEPT, екі өлшемді: ЯМР  $^1\text{H}$  -  $^{13}\text{C}$ -HSQC, HMBC,  $^1\text{H}$  -  $^1\text{H}$  – COSY-45  $^\circ\text{C}$ , NOESY, сондай-ақ оптикалық айналуы (P-2000 маркалы поляриметрде), УК- (Shimadzu UV-240, Жапония), ИҚ- (Bruker Vector 22, Жапония) спектроскопия мен EI-MS (JEOL 600H-1, Inlet: Direct Probe), FAB-MS (JEOL 600H-2, Inlet: Direct Probe), ESI-MS (Burker Compass Data Analysis 4.2), HR-EI-MS (JEOL 600H-2, Inlet: Direct Probe), балку температурасы (Melting point Buchi M-560) көмегімен H.E.J. Research Institute of Chemistry, International Center for Chemical and Biological Sciences, University of Karachi, Pakistan және әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, органикалық заттар, табиғи қосылыстар және полимерлер химиясы мен технология кафедрасының зертханаларында жүргізілді.

**Алынған нәтижелердің жаңалығы.** Қазақстандық және шетелдік басылымдарда мақалалар жарық көріп, «Бактерияға қарсы әсер көрсететін дәрілік зат алудың тәсілі» №7680 (23.12.2022, бюл. №51) атты ғылыми-зерттеу жұмысы ҚР-ның пайдалы моделімен қорғалған.

**Жұмыстың тәжірибелік маңыздылығы.** Алабұталар (*Chenopodiaceae*) тұқымдасына жататын *Petrosimonia* өсімдігінің кейбір түрлері биологиялық белсенді заттарды алудың жаңа нысаны болып, зерттеу нәтижесінде алынған препараттар қабынуға және бактерияға қарсы белсенділік көрсетті. Бұл нәтижелер халықтық медицина мен фармацевтикалық өндірістің мұқтаждығын қамтамасыз ететін *өзекті мәселе* ретінде тиімді және қол жетімді отандық препараттардың үлесін арттыруға көмектесуі мүмкін.

### **Қорғуға ұсынылатын негізгі мәселелер:**

1. Алабұтала (*Chenopodiaceae*) тұқымдасына жататын *Petrosimonia* өсімдігінің кейбір түрлерінің құрамына салыстырмалы сапалық және сандық сараптау жасалғаны жайлы;

2. *Petrosimonia* өсімдігінің кейбір түрлерінен биологиялық белсенді кешендер мен жеке заттарды алу үшін экстракция және хроматографияның әр түрлі әдістерімен жоғары критикалық флюидті  $\text{CO}_2$ -экстрактор сияқты заманауи құрылғыларды қолданып, биологиялық белсенді кешендер мен заттарды бөлудің тиімді жолын оңтайландыруды ұсыну;

3. Оқшауланған заттардың құрылысын заманауи әдістер көмегімен дәлелдеуді;

4. Алынған экстрактілер мен заттардың биоскрининг нәтижесімен таныстыру.

**Автордың жеке үлесі.** Зерттеу нысанындағы өсімдік шикізаттарын дайындау, нысандағы өсімдіктер туралы ғылыми-зерттеу жұмыстарын әдебиет көздерінен іздестіру және келтірілген нәтижелерді талқылау, диссертациялық жұмыстың теориялық және практикалық бөлімдерін жазу, қол жеткізілген нәтижелерді талқылау, сараптау және қортындылап түйіндеуді автор өзі жүргізді.

**Жұмыстың мемлекеттік ғылыми бағдарламалармен байланысы.** Диссертациялық жұмыс әл-Фараби атындағы ҚазҰУ, Жаңа химиялық технологиялар және материалдар ҒЗИ базасындағы АР08052551-ОТ-22 «Химическое исследование и активность природных соединений из некоторых видов растений Казахстана» (2020-2022) және АР05131716-ОТ-20 «Разработка научных основ выделения новых отечественных препаратов из растительного сырья для медицины и сельского хозяйства» (2018-2020) атты ғылыми -зерттеу жобалары шеңберінде жүргізілді.

**Жариялымдар.** Диссертациялық жұмыс нәтижелері бойынша 9 ғылыми мақала жарық көрді, оның ішінде 3 мақала импакт-факторы бар халықаралық басылымдарда, 2 мақала ҚР ЖБҒ білім және ғылым саласындағы бақылау Комитетімен ұсынылған басылымдарда, 3 баяндама тезисі халықаралық конференция жинақтарында және «Бактерияға қарсы әсер көрсететін дәрілік зат алудың тәсілі» №7680 (23.12.2022, бюл. №51) атты ғылыми-зерттеу ҚР-ның пайдалы моделімен қорғалған.

**Жұмыстық құрылымы мен көлемі.** Диссертациялық жұмыс нормативті сілтемелер, белгілеулер мен қысқартулар, кіріспе, әдебиеттерге шолу, тәжірибелік бөлім, зерттеу нәтижелері және оларды талқылау, *Petrosimonia triandra* өсімдігінен алынған фитопрепараттардың биологиялық белсенділіктері, қолданылған әдебиеттер тізімінен тұрады.

# 1 ӘДБИЕТТЕРГЕ ШОЛУ

## 1.1 Табиғи қосылыстар және дәрілік заттардың ашылуы

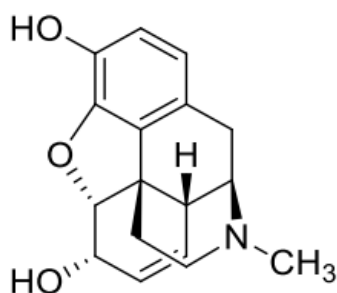
Өсімдік тектес препараттар ежелден белгілі, көне заманда да өркениеттер өсімдіктерді емдеу үшін қолдануымен танымал болды. Ең көне жазбаларда өсімдіктердің дәрі ретінде қолданылуы шамамен 5000 жыл тарихы бар екені дәлелденген [1]. Біздің заманымызға дейінгі 2500 жж. император Шен Нунг «Қытай медицинасының атасы» атты кітап жазған. Бұл қытай кітабы «Пен Тсао» тамырлар мен шөптер туралы шамамен 365 түрлі тұжырымдарды қамтиды, соның ішінде женьшень, джимсон арамшөптері, даршын және эфедра бүгінгі күнге дейін қолданылып келеді [2, 3].

Басқа ежелгі өркениеттер сияқты, ежелгі мысырлықтар да өздерінің медицинасымен және фармакологиясында өсімдіктерді дәрі ретінде пайдалануды құжаттаған. Эберс папирусында кастор майы, алоэ, сenna, сарымсақ, інжір және пияз сияқты 700 түрлі өсімдік түрінен 800 ден астам дәрі жазылған [4].

Гректер дәрілік өсімдіктер мен шөптерді қолдануды дамытқан. Теофраст (шамамен б.з.б. 300 ж.) өсімдіктердің фармакологиясы және ежелгі табиғат тарихының маңызды кітаптарының бірі «Historia Plantarum» немесе «Өсімдіктер тарихын» жазған, бұл кітапта Теофраст өсімдіктердің анатомиясын және олардың фармакологиялық қолданылуын қарастырған. Батыстың тағы бір ықпалды ғалымы – Диоскорид ежелгі дәрілік өсімдіктердің ең көрнекті жазушысы және фармакогнозияның атасы, ол Рим әскерімен бірге саяхаттаған кезде өсімдіктер мен шөптерді зерттеген. 900-ден астам өсімдіктердің дәрілік рецептерін қамтитын әйгілі «De Materia Medica» кітабын жазды, бұл кітап өсімдіктің сыртқы түрін, таралуын, өсіруді, дайындауды егжей-тегжейлі сипаттаумен бірге фармакологиялық қолдануы туралы болды [5].

Грек-Рим медицинасы туралы білімнің көп бөлігі орта ғасырларда жойылды, бірақ араб және Андалусия мен Таяу Шығыстағы ислам ғалымдары олардың көпшілігін сақтап, сол дәуірдің тәжірибесін жаңарта алды. Медицинадағы бұл прогресс 9-12 ғасырлар арасында болды, содан кейін қайта өрлеу дәуірі басталып, батыс әлемінде ғылым көбірек зерттеліп дами бастады. Мындаған жылдар бойы ауруларды емдеу үшін өсімдік сығындылары пайдаланылған. Бұл үрдіс фармацевтикалық компаниялар дәрі-дәрмек ретінде табиғи жолмен алынған таза қосылыстарды коммерциялық түрде сата бастаған 19-ғасырдың басына дейін жалғасты. Өткен 200 жыл мыңдаған табиғи заттардың ашылуына, оқшаулануына және құрылымының анықталуына куә болды. Табиғи өнімдердің жүздегені орасан зор биологиялық белсенділікке ие болды және медициналық мақсаттағы фармацевтикалық синтетикалық өнімдер нарыққа шығарылды. Мысалы, неміс фармацевті Фридрих Сертюрнер алғаш

рет бөліп алған табиғи қосылыс морфин (қуатты анальгетик) коммерциялық мақсатта қолданылды [6].



1 – Сурет. Морфин құрылымы

Органикалық молекулалардағы биологиялық белсенділіктің оң нәтижесі жақсы қасиет болып саналады. Алайда химиктер кез келген кездейсоқ берілген молекуланың қандай да бір биологиялық белсенділікке ие екендігін болжай алады. Осылайша, көп құрылымды молекулалардың әсерін анықтаудың жалғыз жолы биологиялық жүйелердің скрининг мүмкіндігі. Таза табиғи өнімдерді экстракциялау және олардың биологиялық белсенділігін зерттеу 20 - ғасырдың басында дәрілік заттарды өндірудің стандартты үрдісі болды. 1928 жылы Шотландиялық фармаколог Александр Флеминг алғашқы шынайы антибиотик пенициллинді *Penicillium notatum* саңырауқұлақтарынан бөліп алды. Бұл медицинада жаңалық болып, 1940 жылдары бактериялық инфекцияларды емдеу бастады [7, 8].

Адам геномын секвенирлеудегі соңғы жетістіктер тазартылған ақуыздарды клондау мен синтездеуге әкелді. Оқшауланған және синтезделген ақуыз нысандарын пайдаланудың жаңа әдістері жасалды. Миллиондаған қосылыстар белгілі бір ақуыз нысанында сыналатын жоғары өнімді скрининг рецепторлар/лигандтардың химиялық әрекеттесуін ірі фармацевтикалық компаниялар жүзеге асырды [9, 10].

Дегенмен, дәрілік заттарды табудың жаңа тәсілі табиғи қосылыстарды зерттеуге кедергі келтірмеді. 1981 жылдан 2014 жылға дейін жаңадан мақұлданған барлық препараттарды зерттеп, дүние жүзінде 1211 жаңа дәрі-дәрмектің жалпы саны мақұлданғаны анықталды. Соның үшінде 320 дәрі табиғи қосылыстар немесе олардың туындылары болды. Бұл препараттар әлемде соңғы отыз жылдықта барлық рұқсат етілген дәрілік заттардың 32,7% құрайды [11, 12, 13].

Табиғи көздерден алынатын қосылыстар дәрілік өнім ғана емес, сонымен қатар физиологияның жаңа аспектісін ашуға көмектесетін маңызды құрал. Қазіргі таңда биохимиялық үрдістердегі негізгі сатылардың төмен молекулалы ингибиторларын жүйелі зерттеуге қызығушылық танытылып отыр. Көптеген

талдаулар фенотипті анықтауды қамтитынын ескере отырып, тірі жасушалардағы өзгерістер табиғи өнімдерді қамтамасыз етуі ықтимал, осындай зерттеулер үшін пайдалы зондтар болып табылады [14, 15, 16].

## **1.2 Алабұта тұқымдас (*Chenopodiaceae*) өсімдіктердің сипаттамасы және олардың таралуы.**

Алабұта тұқымдас (*Chenopodiaceae*) өсімдіктер – тұзды сортаң жерлерде өсетін, өміршең және физиологиялық қабілеттілігі жоғары өсімдіктер. Олар халықтық медицинада ас қорыту, тыныс алу, несеп-жыныс және қан тамыр жолдарын емдеу үшін кең қолданылған [17, 18].

Алабұта (*Chenopodiaceae*) тұқымдасы салыстырмалы түрде үлкен және дүние жүзінде 1400-ге жуық 100-ден астам тұқымдастарға жататын түрлері бар. Бұл өсімдіктер орталық Азия, оңтүстік Америкада көптеп кездеседі. Адам әрекетінің арқасында кейбір түрлері оңтүстік Африка, Жерорта теңізі және Австралия территориясында таралған [19]. Қазақстан территориясында Алабұта (*Chenopodiaceae*) өсімдіктерінің 47 тұқымдас 218 түрі өседі. Елімізде кең таралған Алабұталар (*Chenopodiaceae*) тұқымдасы галофиттер бойынша ең бай өсімдіктер тобын құрайды [20].

Галофиттер – топырақта немесе тұздылығы жоғары суда, тұзды жартылай шөлдерде, батпақтар мен ойпаттарда және теңіз жағалауларында өсетін тұзға төзімді өсімдік. Галофиттер жер өсімдіктерінің 2% - ын құрайды және тұзды ортамен күресе білетін морфологиялық, физиологиялық және айрықша анатомиялық сипаттамаларға ие. Барлық галофиттердің негізгі белгісі олардың  $\text{Na}^+$  және  $\text{Cl}^-$  сияқты бейорганикалық иондарды қолдану қабілеті болып табылады. Галофиттер бүкіл әлем бойынша адамдардың тамақтану рационында бұрыннан белгілі, галофиттердің пайдаланылу әлеуетін ғылыми тұрғыдан зерттеу XX ғасырдың екінші жартысында дамыды. Қазіргі уақытта өсімдіктердің 30 түрі адам тамағының 90% - ын қамтамасыз етеді. Күріш, жүгері және бидай осы құндылықтың 50% құрайды. Сонымен қатар дәстүрлі емес дақылдар (соның ішінде галофитті дақылдар) кейбір аймақтарда (Таяу шығыс) егіншілікке балама ретінде қарастырылады, мұнда тек тұзды сулар немесе сортаң топырақтар бар. Кейбір галофиттер балама жем ретінде мал азығы үшін пайдаланылады, маусымдық жем тапшылығы табысқа жетудің негізгі шектеулері болып, дүние жүзінің көптеген бөліктерінде жануарлар өндірісінде галофитті жем-шөп маңызды рөл атқарады. Сондай-ақ галофиттер биоэтанол, биодизел және отын ретінде өте құнды көз бола алады. Дүние жүзінде шамамен 1,3 млрд адам электр қуатынсыз өмір сүреді, ал Азия және Африканың дамушы елдерінің 2,6 млрд адамы тамақ дайындауына отын тапшылығы кедергі келтіреді. Бұған қоса табиғи көздерді тұтыну осы қарқынмен кете беретін болса жақын 100 жылдықта әлемдік мұнай қоры мен көмір қоры таусылады. Демек жаңартылған энергия көзі ретінде биоэтанолды пайдалану тұрақты өседі және көлік секторында бензиннің өміршең балама алмастырғышы ретінде қарастырылады [21].

Галофитті өсімдіктер тек тамақ пен отын үшін ғана емес, әлемде дәстүрлі медицинада емдік мақсатта ауруларды емдеу үшін маңызды рөл атқарды. Галофитті өсімдіктерде алкалоидтар, флавоноидтар, фенолдар және кумариндер қатарлы биологиялық белсенді қосылыстар көптеп кездеседі. Сондықтан бұл өсімдіктер анальгетикалық, микробқа қарсы қасиеттерге ие. Тайваньда және Үндістанда *T. catappa* жапырағы дерматозды және гепатитті емдеу үшін жүрек стимуляторы ретінде және бактерияға қарсы агент ретінде пайдаланылады. Галофитті өсімдіктердің фенолды қосылыстары қартаюға, қабынуға және канцерогенге қарсы қасиет көрсетеді [22].

Дүние жүзінде Алабұта (*Chenopodiaceae*) тұқымдасына жататын *Petrosimonia* өсімдігінің 11 түрі кездеседі, ал Қазақстанның шөл және шөлейтті аймақтарында 10 түрі өседі. Олар: *Petrosimonia monandra*, *Petrosimonia triandra*, *Petrosimonia litwinowii*, *Petrosimonia squarrosa*, *Petrosimonia hisutissia*, *Petrosimonia crassifolia*, *Petrosimonia glaucescens*, *Petrosimonia brachyphylla*, *Petrosimonia glauca*, *Petrosimonia brachiata* және *Petrosimonia sibirica* [23].

*Petrosimonia* өсімдігінің барлық түрінің химиялық құрамы толық зерттелмеген. Ғылыми-зерттеу жұмысымыздың негізгі нысаны аталған өсімдіктің 4 түрі, яғни *Petrosimonia triandra*, *Petrosimonia glaucescens*, *Petrosimonia brachiata* және *Petrosimonia sibirica* болды.

*Petrosimonia triandra* өсімдігінің (1-сурет) биіктігі 20-25 см, сабағы тік бір жылдық өсінді. Жапырақтары қарапайым, өзегі сызықты жіп тәрізді, кезектесіп орналасады. Гүл шоғыры масақ тәрізді, тегіс сопақ төбелері бар, жапырақ қолтығында жиналатын жалғыз гүлдерден тұрады.

*Petrosimonia glaucescens* өсімдігінің (2-сурет) биіктігі 10-20 см, сабағы тік, көп тармақталған, бұтақтары қарама-қарсы орналасады. Жапырақтары төменгі бұтақта қарама-қарсы, үстіңгі бұтақтарда кезектесіп орналасады. Жапырақтары сызықты, көбіне жартылай иілген, ұшы үшкір болып келеді.

*Petrosimonia brachiata* өсімдігінің (3-сурет) биіктігі 30-45 см, сабағы тік, бұтақтары түбінен қарама-қарсы тармақталған, жапырақтары мен бұтақтары бірге іргелес орналасады. Жапырақтары қарама-қарсы сызықты, етті, жоғарғы жағы жалпақ, төменгі жағы өткір ұшты және біршама иілген болып келеді. Гүлдері шоқталған қысқа жапырақтарының қолтығында орналасады.

*Petrosimonia sibirica* өсімдігі (4-сурет) жіңішке және ұзын, биіктігі 10-40 см, сабағы түзіу, түбінен тармақталған, бұтақтары қарама-қарсы және көлденең орналасады. Жапырақтар қарама-қарсы, тар, жіп тәрізді, жартылай цилиндр және ұшы сүйір болады.

Жалпы таралуы: Каспий теңізінің маңы, Алакөл-Балқаш, Кавказ, Алматы облысының шөлді аймақтары, негізінен Орталық Азия аумағында кездеседі. Кейбір зерттеулер нәтижесі бойынша *Petrosimonia* өсімдіктерінің құрамында амин қышқылдар, май қышқылдары, сапониндер, флавоноидтар, тері илегіш заттар, алкалоидтар, көмірсулар, органикалық қышқылдар, кумариндер, А дәрімені, С дәрумені, Е дәрімені, макро- және микроэлементтер кездеседі. Осыған орай *Petrosimonia* өсімдіктері зерттеушілердің қызығушылығын тудыратын зерттеу нысаны болып табылады [24].



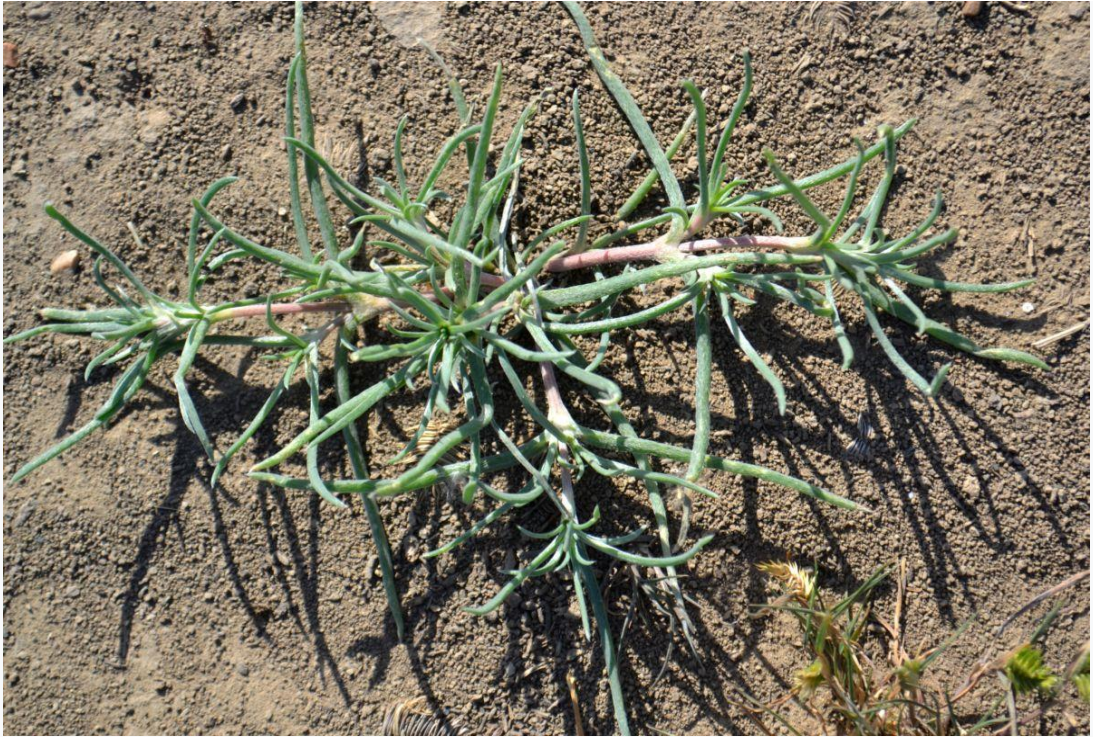


2– Сурет. *Petrosimonia triandra* өсімдігі



3 – Сурет. *Petrosimonia glaucescens* өсімдігі





4 – Сурет. *Petrosimonia brahiata* өсімдігі



5 – Сурет. *Petrosimonia sibirica* өсімдігі



### 1.3 *Petrosimonia sibirica* өсімдігінің химиялық құрамы

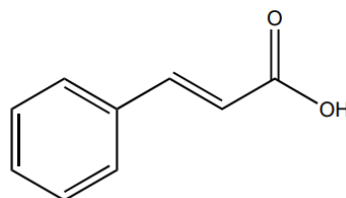
Әдебиеттерге көз жүгіртсек, біздің зерттеу нысандарымыз болып табылатын *Petrosimonia* өсімдігінің *triandra*, *brachiata* және *glaucescens* түрлері зерттелмеген, тек *sibirica* түрін қытай ғалымдары шінара зерттеп, екіншілік метаболиттер: н-гексадеканол; тетрадекан қышқылының 4-гидроксибензил эфирі; лолиолит; дибутилфталат; 2,5-диметоксибензохинон; N-[2-(3,4-дигидроксибензил)-2-гидроксиэтил]-3-(4-метоксибензил)проп-2-энамид және гарминді бөліп алған [25]. Сондай-ақ бұл өсімдік түрінен фенолды қосылыстар мен флавоноидтар бөлініп алынған. Флавоноидты қосылыстар: хризозариол және изорамнетиннің-3-О-рутинозиді. Фенолды қосылыстар: 4-гидроксибензальдегид, 4-гидроксибензой қышқылы, 4-гидроксибензой қышқылының метил эфирі, 4-гидроксиацетофенон, 4-гидрокси-3-метоксибензил спирті, ванилин, сирен қышқылы және 3-гидрокси-4-метоксибензой қышқылының метил эфирі [26]. Бөлінген қосылыстардың әдеби шолулары төменде 1- кестеде көрсетілген.

1– Кесте. *Petrosimonia sibirica* өсімдігінен бөлінген заттар

№	Қосылыстар атауы	Физикалық қасиеттері, Т балку, °С	Шикізат көзі	Әдебиет
1	2	3	4	5
1	н-Гексадеканол	49,3	<i>P. sibirica</i>	[25]
2	Тетрадекан қышқылының 4-гидроксибензил эфирі	-	<i>P. sibirica</i>	[25]
3	Лолит	151-153	<i>P. sibirica</i>	[25]
4	Дибутилфталат	- 35	<i>P. sibirica</i>	[25]
5	2,5-Диметоксибензохинон	216-218	<i>P. sibirica</i>	[25]
6	N-[2-(3,4-дигидроксибензил)-2-гидроксиэтил]-3-(4-метоксибензил)проп-2-энамид	-	<i>P. sibirica</i>	[25]
7	Гармин	264-265	<i>P. sibirica</i>	[25]
8	Хризозариол	273-275	<i>P. sibirica</i>	[26]
9	Изорамнетин-3-О-рутинозид	184-186	<i>P. sibirica</i>	[26]
10	4-гидроксибензальдегид	118-119	<i>P. sibirica</i>	[26]
11	4-гидроксибензой қышқылы	216-218	<i>P. sibirica</i>	[26]
12	4-гидроксибензой қышқылының метил эфирі	116-121	<i>P. sibirica</i>	[26]
13	4-гидроксиацетофенон	127-129	<i>P. sibirica</i>	[26]
14	4-гидрокси-3-метокси бензил спирті	-	<i>P. sibirica</i>	[26]
15	Ванилин	210-212	<i>P. sibirica</i>	[26]
16	Сирен қышқылы	205-207	<i>P. sibirica</i>	[26]
17	3-гидрокси-4-метоксибензой қышқылының метил эфирі	64-67	<i>P. sibirica</i>	[26]

#### 1.4 Кумар қышқылы және оның туындыларының сипаттамалары

Кумар қышқылы (5-сурет) *Cinnamotum cassia* (қытай даршыны) өсімдігінен бөлінген ароматты қышқыл. Фенил сақинасында сутекпен алмастырылған акрил қышқылы тобының болуы кумар қышқылының цис-немесе транс-конфигурациясын береді. Әдебиет көздерінде кумар қышқылы тотығуға, микробқа, ісікке, қабынуға және диабетке қарсы белсенділік қасиет көрсететіні қарастырылған [27].



6 – Сурет. Кумар қышқылының құрылымы

Қазіргі таңда кумар қышқылының көптеген жаңа түрлері белгілі, алайда бұл кластың жалпы қабылданған жіктелуі жоқ. Кумар қышқылының туындыларын құрылымдық талдауда зерттеушілер қолданатын номенклатура қолайсыз. Сол себепті табиғи қосылыстар химиясында В.А. Куркиннің ұсынған жіктелуіне сай кумар қышқылдары келесі топтардан тұратын жеке класс ретінде қарастырылады:

##### 1. Жай кумар қышқылдары

- а) кумар қышқылының күрделі эфирлері мен гликозидтері;
- б) кумар қышқылының амидтері;
- в) кумар қышқылының альдегидтері.

##### 2. Күрделі кумар қышқылдары

- а) фенилэтанойдтар негізіндегі кумар қышқылының гликозидтері;
- б) кумар қышқылының тотыққан өнімдері (лигноидтар): лигнандар (кумар қышқылының димерлері мен олигомерлері); флаволигнандар; ксантонлигнандар; кумаринолигнандар; алкалоидолигнандар; неолигнандар.

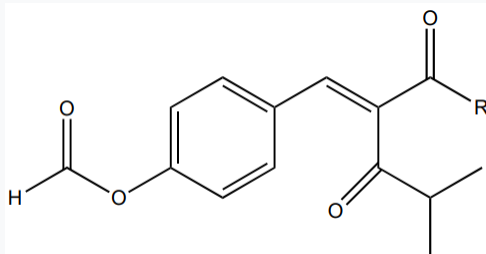
3. Кумар қышқылдарына биогенетикалық тұрғыдан жақын қосылыстар (флавоноидтар, кумариндер, халкондар және т.б.)

Келтірілген жіктелулер фенолды қосылыстар биосинтезінің заманауи түсініктеріне негізделген [28, 29].

Кумар қышқылы және оның туындылары өсімдіктерде көптеп кездеседі, бензол сақинасының және акрил қышқылы тобының болуы оны модификациялауға мүмкіндік береді, нәтижесінде кумар қышқылының синтетикалық туындылары алынған. Сонымен қатар кумар қышқылы

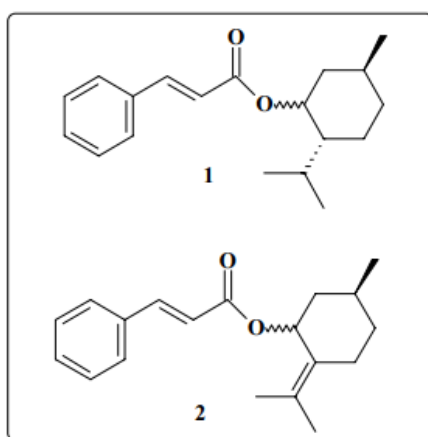
стильбендер мен стирендер сияқты қосылыстарды өндіруде аралық қосылыс болып табылады [30].

Метил 2-{(E)-2-[4-(формилокси) фенил] этенил}-4-метил-3-оксопенаоат (6-сурет) өсімдік тектес эндофитті *Pyronema sp.* саңрауқұлағынан бөлінген 4-гидроксикумар қышқылының туындысы, бұл қосылыс тері инфекцияларына қарсы биологиялық белсенділік қасиет көрсеткен [31].



7 – Сурет. 4-гидроксикумар қышқылының туындысы

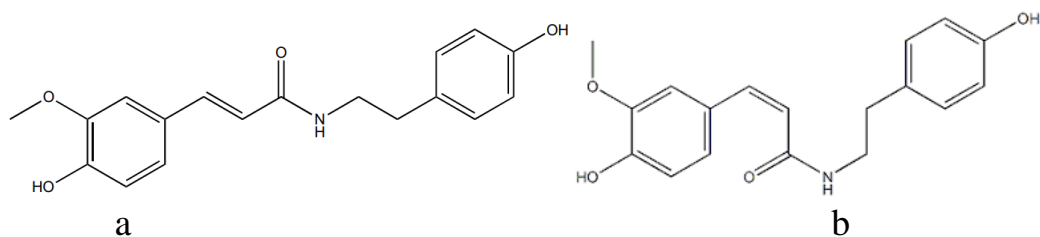
Соңғы жиырма жылдықта биологиялық белсенділігінің кең спектріне және төмен уыттылығына байланысты құрамында кумар қышқылының туындылары бар табиғи өнімдерге көп көңіл бөлінді. Сонымен қатар, өсімдік көздерінен оқшауланған немесе синтезделген *транс*-кумар қышқылының туындылары өздерінің антиоксиданттарымен өте танымал болды [32]. Кумар қышқылының туындылары, әсіресе гидроксил топтары бар бөліктері күшті бос радикалдарды тазартатын қасиеттерге ие. Кумар қышқылының күрделі эфирлері, амидтері, гидразидтері және басқада туындыларының денсаулыққа пайдасы әдебиеттерде көрсетілген [33]. Кумар қышқылының күрделі эфирлері пулегил циннамат және ментил циннамат (7-сурет) қабынуға қарсы қасиет көрсеткені дәлелденген [34].



8 – Сурет. Пулегил циннамат (1) және ментил циннамат (2) құрылымы

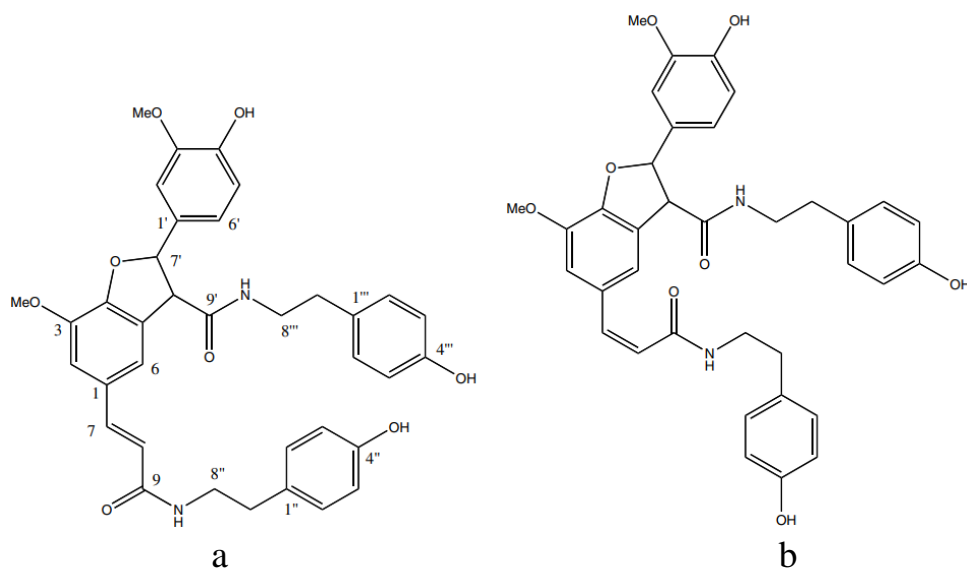
Гидроксикумар қышқылының амидті туындылары *N-транс*-ферулоилтирамин және *N-цис*-ферулоилтирамин зақымданған қарапайым

картоп тіндерінен (*Solanum tuberosum*) бөліп алынған (8-сурет), мұндай қосылыстар ағзада полифенолдардың күштерін нығайтуға ықпал ететіп, жасуша қабырғаларын ферменттердің шабуылынан қорғайды [35].



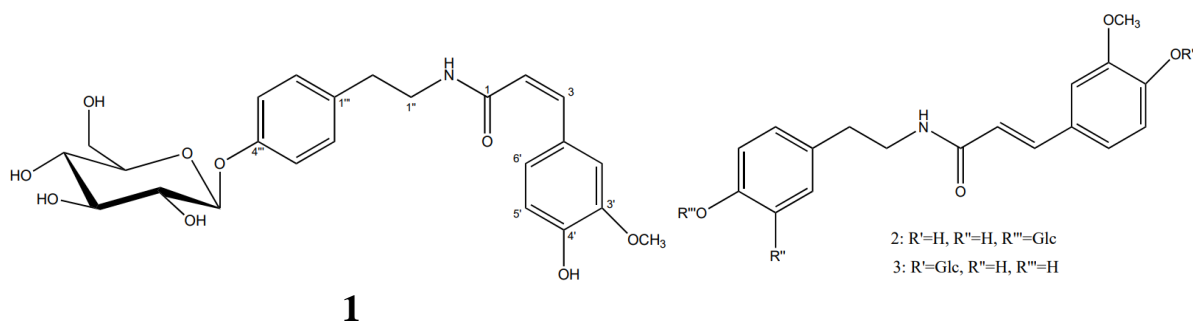
9 – Сурет. N-*транс*-ферулоилтирамин (a) және N-*цис*-ферулоилтирамин (b) құрылымы

Сондай-ақ гидроксикумар қышқылы амидтерінің өзара байланысқан димерлі туындылары N-*транс*-гроссамид және N-*цис*-гроссамид зақымданған картоптың тіндерінен (cv. Green Mountain) бөліп алынған және идентификацияланған (9-сурет). Бұл қосылыстар ферулоиламид мономерлерінің пероксидтік реакциялары нәтижесінде түзіледі, олар полифенол домендерінің түзілуіндегі аралық заттар болып табылады және жараны емдеу барысында суберизация үрдісімен байланысты болады [36].



10 – Сурет. N-*транс*-гроссамид (a) және N-*цис*-гроссамид (b) құрылымы

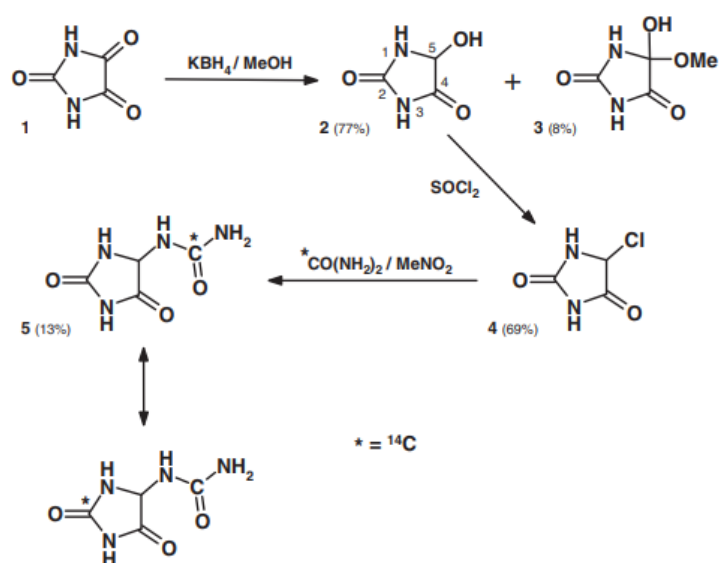
*Menispermaceae* тұқымдасына жататын *Stephania hispidula* Yamamoto өсімдігінен 3 түрлі ферулоил тирамин гликозидтері: N-*цис*-ферулоил тирамин-4'''-O- $\beta$ -D-глюкопиранозиді **1**; N-*транс*-ферулоил тирамин-4'''-O- $\beta$ -D-глюкопиранозиді **2** және N-*транс*-ферулоил тирамин-4'-O- $\beta$ -D-глюкопиранозиді **3** бөлінген [37].



11 – Сурет. Ферулоил тирамин гликозидтерінің құрылымдары

### 1.5 Аллантаин, табиғи көздерден бөлінуі және биологиялық маңызы

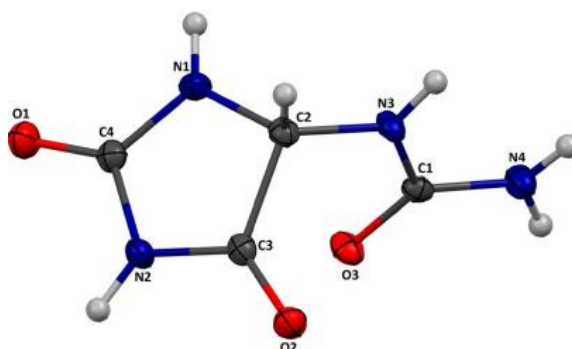
DL-5 моно алмастырылған гидантоиндер маңызды прекурсорлар болып табылатын оптикалық таза D- немесе L-амин қышқылдары, олар ферменттер катализдейтін гидролиздер арқылы бірқатар дәрілік заттар мен фармацевтикалық препараттарды өндіруде аралық өнім болып табылады. DL-аллантаинның оптималды бір сатылы синтезі глиоксил қышқылының (ОНС-СООН) мочевиімен реакциясы болып табылады, ол үшін салыстырмалы түрде арзан және қолжетімді гетерогенді катализаторларды қолдану зерттелген. Зерттеу барысында реакция HCl және Dowex 50W×8 шайырымен катализденеді (10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> алдын ала өңделген). Екі жағдайда да аллантаинды кристалды қатты зат ретінде алу мүмкін емес болған, хроматография арқылы тазарту нәтижесінде өнім құрамында реакцияға түспеген мочевиі болған (<sup>1</sup>H ЯМР 5,41 ppm, <sup>13</sup>C ЯМР 160,0 ppm), сондықтан бұл бағыт DL-аллантаин синтезі үшін қолайлы емес деп санаған [38, 39].



12 – Сурет. DL-аллантаин синтезі.

Сондай-ақ, DL-5-амингидантоин реакциясының синтезі үшін калий цианаты KCNО радиобелгі көзі ретінде пайдаланған. Алайда бұл реакция нәтижесінде калий цианаты аллантоинды таза қатты зат ретінде шығармаған. Таза қатты күйдегі аллантоинды алу үшін жүйеде көрсетілгендей реакцияның соңғы сатысында DL-5- хлоргидантоин реакциясы үшін мочевина радиобелгі ретінде енгізілді, реакция нәтижесінде тазалығы жоғары қатты күйдегі мақсатты өнім DL-аллантоин алынған [40, 41].

Аллантоин таза кристал түрінде *Cleome viscosa* өсімдігінің метанол экстрактісінен алғаш рет бөліп алынды. Аллантоинның құрылысын дәлелдеу үшін жеке кристалы арқылы XRD түсірілді, одан әрі FTIR және ESI-MS спектроскопия әдістері арқылы расталған. Ол P2<sub>1</sub>/c ғарыштық тобы бар моноклиникалық кристалдық жүйеде кристалданған. Оқшауланған аллантоинның электрондық құрылымын сипаттау үшін тығыздықтың функционалдық теориясын есептеу жасалған. Атом зарядтары, дипольдік момент, шекаралық молекулалық орбиталь және газ фазасындағы белсенді молекуланың электростатикалық потенциал картасына да талдау жасалды. Аллантоин грам-оң және грам-теріс бактерияларға қарсы белсенділік көрсетті [42].



13 - Сурет. Алантоинның NFA27 атомдық нөмірленуі бар ORTEP диаграммасы

Әдебиеттерде аллантоин DPPH талдауы бойынша *in vitro* тотығу үрдісіне қарсы белсенділік қасиетін көрсеткені зерттелген. Сондай-ақ есте сақтау қабілетін арттыратын, антиулцерогенді, антиноцицептивтік, қабынуға қарсы, тіндерді қалпына келтіретін, фибробласттардың көбюіне қарсы, цитопротекторлық эффект, ақуыз агрегациясының алдын алу, ревматикалық бұзылуларға қарсы, гипертензияға қарсы және тотығу стрессін өлшеуге арналған биомаркер ретінде белсенділік қасиеттер көрсететіні келтірілген [43, 44].

## 1.6 Әр түрлі өсімдік шикізаттарынан кумар қышқылының амидті туындыларын бөлу және тазарту әдістері

Табиғи өнімдерді, әсіресе өсімдіктерді емдік мақсатта пайдалану дәстүрлі және әмбебап медицина тәсілі. Қытай, Аюрведа және Египет сияқты елдердің дәстүрлі медицина жүйелерінде табиғи өнімдер маңызды рөл атқарған. Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымының (ДДСҰ) мәліметіне сәйкес әлем халықтарының 75% - ы әлі де медициналық-санитарлық көмекке өсімдік негізіндегі дәрілерді пайдаланады. Табиғат мындаған жылдар бойы емдік агенттердің көзі болды, қазіргі заманғы дәрілердің көп сандысы табиғи көздерден алынған, олардың көпшілігі дәстүрлі медицинада қолданылуына негізделген. Өткен ғасырда табиғи өнімдерден ең көп сатылатын бірқатар дәрілер жасалған, соңғы жылдары жаңа дәрі-дәрмектің әлеуетті көзі ретінде табиғи өнімдерге қызығушылық айтарлықтай жанданды, сондай-ақ фармацевтикалық компаниялар арасында өндіріс үрдісі байқалды. Табиғи өнімдерден заманауи препараттар (қолданылатын заманауи препараттардың ~ 40%) жасалған [45].

### 1.6.1 Өсімдік шикізаттарын өңдеуде қолданылатын әдістер

Экстракция үрдісін таңдау шикізат көзі мен оқшауланатын қосылыстардың сипатына байланысты болады. Әдісті таңдамас бұрын, экстракция мақсатын белгілеу қажет. Ол мақсаттар төменде көрсетілгендей жорамалданады:

- Белгісіз биологиялық белсенді қосылыс.
- Ағзада болатын белгілі қосылыс.
- Құрылымдық жағынан ағзамен байланысқан қосылыстар тобы.
- Барлық екіншілік метаболиттер бір табиғи көзден жасалады, мысалы, бір тектің екі түрі немесе әртүрлі жағдайда өсетін бір түр.
- Химиялық сараптау немесе метаболикалық зерттеу ағзада бар барлық екіншілік метаболиттерді идентификациялау үшін қажет.

Әдеттегі экстракция үрдісі, әсіресе өсімдік материалдары үшін мынадай қадамдарды қамтиды:

1. Өсімдік шикізатын кептіру және ұнтақтау, өсімдіктің жаңа бөліктерін гомогенизациялау (жапырақтар, гүлдер және т.б.) немесе өсімдіктің жалпы бөліктерін еріткішпен мацерациялау.

2. Еріткіштерді таңдау

а. Полярлық экстракция: су, этанол, метанол (MeOH) және т.б.

б. Орташа полярлық экстракция: этилацетат (EtOAc), дихлорометан (DCM) және т.б.

в. Полярлы емес: n-гексан, пет-эфир, хлороформ (CHCl<sub>3</sub>) және т.б.

3. Экстракция әдісін таңдау

- а. Мацерация
- б. Қайнату
- в. Сокслет
- г. Жоғары критикалық флюидті CO<sub>2</sub> – экстракция
- е. Сублимация.
- ф. Бумен айдау

#### *Табиғи сығындыларды фракциялау*

Табиғи сығындылар биологиялық белсенді қосылыстар кешені болып табылады, бұл қоспадан жеке қосылыстарды алу үшін бір ғана бөлу әдісін қолдану тиімсіз болады. Демек, сығынды бастапқыда полярлығы немесе молекулалық өлшемдері ұқсас қосылыстары бар әртүрлі фракцияларға бөлінеді. Бұл фракцияларды бөлу үшін вакуумдық сұйықтық хроматографиясы (ВСХ), бағаналы хроматография (БХ), қатты фазалық экстракция (ҚФЭ) қолданылады. Кез келген сығындыны бастапқы бөлу барысында тым көп фракциялар жасамаған жөн, себебі ол мақсатты қосылысты көп фракцияларға таратып, концентрациясы төмен жеке заттар анықталмауы мүмкін. Жіңішкелікпен фракциялау үшін үнемі онлайн анықтау әдісін басшылыққа ала отырып, мысалы, ультракүлгін (УК), заманауи препараттық немесе жартылай дайындалатын жоғары эффективті сұйықтық хроматографиясын (ЖЭСХ) пайдалануға болады [46].

#### *Жеке заттарды оқшаулау*

Оқшаулау протоколын құрастыру алдында ескеру қажет ең маңызды фактор шикі сығындылардағы немесе фракциялардағы мақсатты қосылыстардың табиғаты болып табылады. Молекуланың оқшаулау үрдісін анықтауға көмектесетін жалпы ерекшеліктеріне ерігіштік (гидрофобтылық немесе гидрофильдік), қышқыл-негіздік қасиеттері, заряды, тұрақтылық және молекулалық өлшем жатады. Белгілі қосылысты бірдей немесе жаңа шикізат көзінен бөліп алған жағдайда мақсатты қосылыстың хроматографиялық жағдайлары туралы әдебиеттік ақпаратты алу арқылы оқшаулаудың ең қолайлы әдісін үлкен қиындықсыз таңдауға болады. Дегенмен, қосылыстардың түрлері белгісіз болатын сығынды үшін оқшаулау протоколын жасау қиынырақ. Бұл жағдайда фенолдар, стероидтер, алкалоидтар, флавоноидтар және т.б. сияқты қосылыстардың әртүрлі түрлерінің болуына сапалық сараптаулар, сондай-ақ аналитикалық жұқа қабатты хроматография (ЖҚХ) немесе ЖЭСҚ профилін жасау қажет. Сығындының табиғаты дұрыс оқшаулау протоколын таңдау үшін де пайдалы болуы мүмкін. Мысалы, метанол сығындысы немесе полярлы қосылыстары бар осы сығындының фракциялары кері фазалық ЖЭСХ (КФ-ЖЭСХ) көмегімен жақсырақ өңделеді [47].



Табиғи өнімдердің әртүрлі түрлерін оқшаулауда қолданылатын хроматографиялық әдістерді екі санатқа бөлуге болады: классикалық немесе ескі және қазіргі заманғы.

Классикалық немесе ескі хроматографиялық әдістерге мыналар жатады:

1. Жұқа қабатты хроматография (ЖҚХ).
2. Препаративті жұқа қабатты хроматография (Препаративті ЖҚХ).
3. Бағаналы хроматография (БХ).
4. Флеш хроматография (ФХ)

Қазіргі заманғы хроматографиялық әдістер:

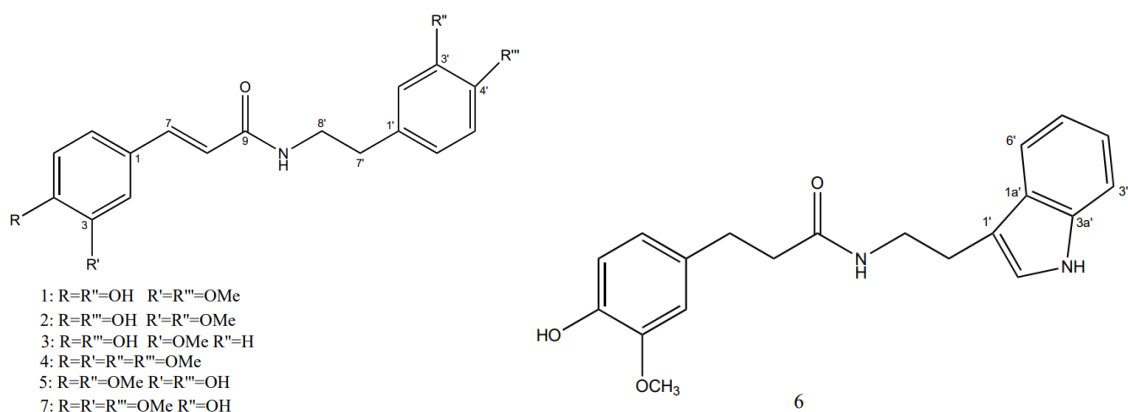
1. Жоғары эффективті жұқа қабатты хроматография (ЖЭЖҚХ).
2. Multiflash хроматография (мысалы, Biotage ).
3. Вакуумдық сұйық хроматографиясы (ВСХ).
4. Хроматотрон
5. Қатты фазалық экстракция (мысалы, Sep-Pak ).
6. Тамшылардың қарсы ток хроматографиясы (ТҚТХ).
7. Жоғары өнімді сұйықтық хроматографиясы (ЖЭСХ).
8. Дефистелген әдістер (мысалы, HPLC-PDA, LC-MS, LC-NMR, LC-MS-NMR)

1.6.2 Кумар қышқылының амидті туындыларын бөлу және тазарту әдістері

1) Кумар қышқылының амидтерін бөлуде **мацерация** әдісі арқылы кешен алынған және кешеннен жеке заттарды бөлуде Sephadex LH-20 бағаналы хроматография қолданылған

Әдебиет көздерінде кумар қышқылының амидтерін әр түрлі әдістермен бөліп алынған. *Chenopodium album* өсімдігінен 7 түрлі кумар қышқылының амидтері бөлінген. Өсімдік материалына  $H_2O$ – $MeOH$  (9:1) еріткішін құйып, жеті күн бөлме температурасында қалдырған. Алынған сығындыны – 80 °C температурада пайдаланғанға дейін мұздатып сақтаған. Кешенге су қосу арқылы суспензия дайындап мұздай ацетон қосып, суық бөлмеде бір түнге қалдырған. Ацетонның қосылуы негізінен ақуызды материалдардан тұратын ауыр тұнба тудырған, ол тұнбаны центрифугалау арқылы бөлген. Ацетонды роторлы буландырғышта бөліп алып, соңында қою сулы экстракт қалған. Алынған сулы қалдықты этилацетат пен экстракция жасап, органикалық бөлікті 2 н  $HCl$  мен бейтараптаған. Кейін еріткіштен арылтып, тұнба түріндегі кешенді бағаналы хроматография көмегімен силикагел арқылы А-Z фракцияларына бөлген. Р фракциясын Гексан -  $CHCl_3$  –  $MeOH$  (1:3:1) еріткіштер жүйесімен Sephadex LH-20 ды қолдану арқылы (1-7) қосылыстарды бөліп алған [48]. Бұл әдісте зерттеушілер қосылыстарды шикізаттан сығынды алу үшін тек классикалық **мацерация** әдісімен шектелген және Sephadex LH-20 қолданған,

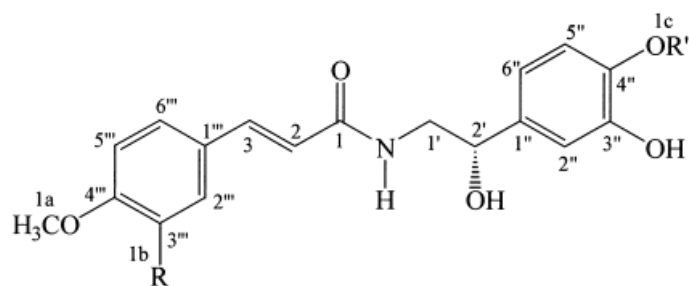
бұл адсорбент қымбат болғандықтан экономикалық жағынан тиімсіз болып есептелген.



#### 14 – Сурет. *Chenopodium album* өсімдігінен бөлінген кумар қышқылының амидті туындыларының құрылымдары

2) Кумар қышқылының амидтері *N*-транс-ферулоилтопаминаларды алуда **перколяция** әдісімен экстракция жасау және препаративті ЖЭСХ ны қолдану

Кептірілген *Salsola foetida* Linn өсімдік шикізатын метанол еріткішімен екі апта **перколяция** жасаған. Алынған құрғақ кешен гексан, диэтил эфирі және этилацетат еріткіштерімен өңделген. Этилацетатты бөлікті дистилденген сумен экстракциялап, қоюлату жұмыстары нәтижесінде бозғылт сары шәрбат алынған. Сосын *Sephadex LH-20* мен MeOH/H<sub>2</sub>O еріткішімен полярлықты арттыра отырып, хроматографиялаған. Алынған фракцияларды тазарту үшін кері фазалы C18 бағаналы хроматографиясында MeOH/H<sub>2</sub>O 3:8 еріткішін қолданған. Соңғы тазарту жұмыстарын қайта өңдейтін препаративті ЖЭСХ (YMC, ODS-H80 бағана) арқылы MeOH/H<sub>2</sub>O 1:1 изокритикалық еріткіштер жүйесін қолдану арқылы (1-3) қосылыстарын бөлген [49]. Бұл бөлу әдісінде *Sephadex LH-20*, кері фазалы C18 және препаративті ЖЭСХ (YMC, ODS-H80 бағана) хроматографиялық әдістерді қолдану арқылы бөліп тазалау барысы ұзартылған және бұл үрдісте таза қосылыстарды массалық жоғалту болу мүмкін деп жорамалдаған.



1 R = H, R' = H

2 R = MeO, R' = H

3 R = H, R' = Me

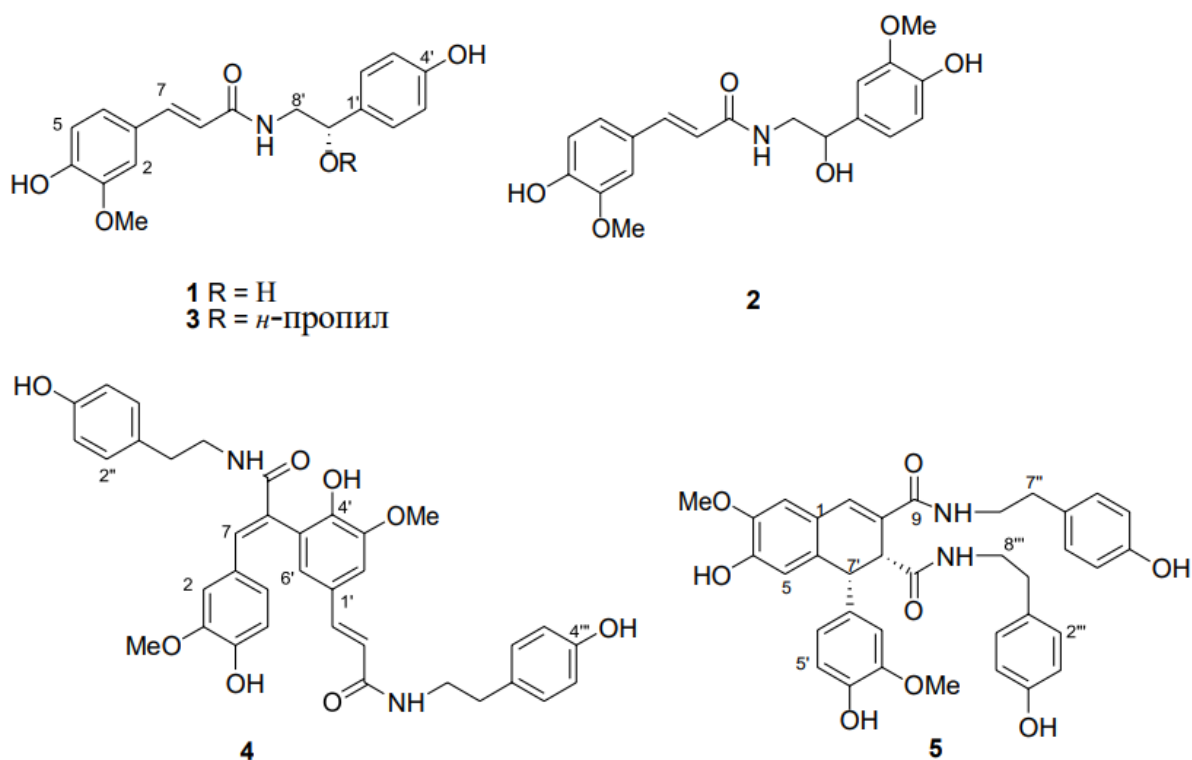
### 15 – Сурет. *Salsola foetida* өсімдігінен бөлінген кумар қышқылының амидті туындыларының құрылымдары

3) Кумар қышқылының амидтерін алуда шикізатқа **мацерация** әдісімен экстракция жасау және таза заттарды бөліп алу үшін препаративті ЖЭСХ ны қолдану

Кептіріліп ұнтақталған *Lycium chinense* Miller (*Solanaceae*) өсімдігін метанол еріткішімен **мацерация** әдісі арқылы бөлме температурасында өңдеген. Алынған сығындыны төмен қысым астында еріткішінен айырып, құрғақ кешен алған. Кешенді дистилденген су қосып, суспензия жасаған және органикалық еріткіштер дихлорметан, этилацетат және н-бутанол көмегімен экстракция жасаған. Этилацетатты фракцияны төмен қысым жағдайында қоюлатылып, құрғақ өнім алынған. Дайын кешенді **силикагель** (300 г, 4.8×45 см) көмегімен бағанада дихлорметан/метанол/су еріткіштер жүйесімен [8:1:0.1 (көлем бойынша)→6:1:0.1→4:1:0.1→2:1:0.1→ таза метанол] хроматографиялаған. Хроматография нәтижесінде 8 фракция (Е1-Е8) алған және ЖҚХ профиль жасалған. Е4 фракциясын **силикагель** (100 г, 2.8 × 40 см) бағаналы хроматографиясында дихлорметан/метанол/су еріткіштер жүйесімен (3:1:0.1, көлем бойынша) қайта тазарту жүргізілген, соңғы тазарту жұмыстары препаративті ЖЭСХ да изопропанол/метанол/су (3:24:73, көлем бойынша) еріткіштер жүйесімен жүргізілген және дигидро-N-кофеоилтирамин, *транс*-N-ферулоилоктопамин, *транс*-N-кофеоилтирамин және *cis*-N-кофеоилтирамин қосылыстары бөлінген [50]. Бұл үрдісте зерттеушілер тазарту жұмыстарын жүргізу үшін **силикагель** қатысында бағаналы хроматографияны екі рет қолданып жұмыс барысын ұзартқан.

4) Кумар қышқылының амидті туындыларын алуда Amberlite XAD-2 адсорбентін қолдану

*Artenia cordifolia* өсімдігінің жас жапырақтарын бөлме температурасында  $H_2O$ – $MeOH$  (9:1) еріткішімен 7 күн мацерация жасаған. Сығындыны еріткіштен айырып, кептірген. Алынған құрғақ кешенге ацетон қосып, суық бөлмеде ( $-18\text{ }^\circ\text{C}$ ) бір түнге қалдырған. Ацетонды буланырып алып, су қосып суспензия жасаған. Сулы экстрактіні Amberlite XAD-2 адсорбентінде  $H_2O$ ,  $CH_3OH$  және  $CH_3COCH_3$  еріткіштер көмегімен хроматографиялап, алты фракция алған.  $CH_3COCH_3$  фракциясын силикагель көмегімен бағанада хроматографиялап, 11 (A1-A11) фракция алған. A3 фракциясын этилацетатта ерітіп, флэш силикагель арқылы бағана  $CH_2Cl_2$  –  $CH_3COCH_3$  градиентті еріткіштер жүйесін пайдаланып, A-I фракцияларын хроматографиялаған. D фракциясын  $CH_2Cl_2$  –  $CH_3COCH_3$  (9/1) еріткішінде ерітіп, кері фазалы ЖЭСХ да [ $CH_3OH$ – $CH_3CN$ – $H_2O$  (3/1/6)] еріткіштер жүйесімен фракциялау арқылы таза (1-5) қосылыстарды бөлген [51]. Бұл үрдісте зерттеушілер еріткіштер жүйесі үшін ацетонды қолданған, дегенмен, ацетон прекурсор болып табылады. Осы еріткіш көмегімен алынатын препараттар ағзаға кері әсерін тигізеді деп есептейміз.

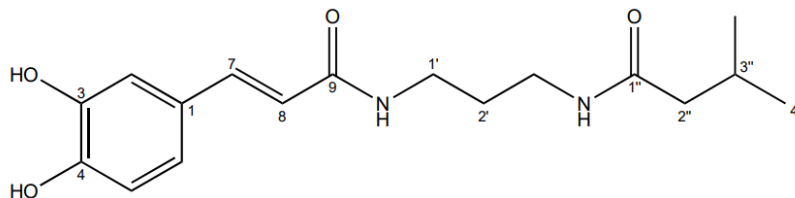


16 – Сурет. *Artenia cordifolia* өсімдігінен бөлінген кумар қышқылының амидті туындыларының құрылымдары

5) Кумар қышқылының амидті туындыларын Diaion HP-20 адсорбентін қолдану арқылы алу

*Bassia indica* Wight өсімдігінің кептірілген жер үсті бөлігін 80%-ды метанолмен мацерация әдісі арқылы үш рет өңдеген. Алынған сығынды буландыру арқылы еріткішінен босатылған және кептірілген. Құрғақ кешенге су қосып, суспензия дайындап, н-гексан, дихлорметан, этилацетат және н-бутанол қатарлы органикалық еріткіштер көмегімен фракцияларға бөлген.

Алынған н-бутанол фракциясын Diaion HP-20 адсорбентін қолданып, (100% су, 25% - метанол, 50% - метанол, 75% - метанол және 100% - метанол) хроматографиялап, 5 фракция (BU1-BU5) алған. BU3 фракциясын MPLC астында RP-C18 флэш бағанасы арқылы су-метанол (80:20–0:100) еріткіштер жүйесі бойынша хроматографиялаған, содан кейін препараттық HPLC (Zorbax Extend-C18 PrepHT, 21,2 150 мм, 5 мм) мен изокритикалық элюциясы бар MPLC-ге қосылған бағанада су-метанол (75:25) еріткішімен өңдеген. Ары қарай кері фазалы препараттық ЖҚХ көмегімен су-метанолдың жылжымалы фазасы (50:50) қатынасында жуу арқылы таза қосылыс N-[(3-(3-метил-1-оксобутил)амин)пропил]-3-(3,4-дигидроксифенил)-проп-2-энамид алынған [52]. Бұл зерттеу жұмысында авторлар шикізаттан сығынды алу үшін классикалық әдіс мацерацияны ғана қолданып, басқа заманауи әдістерді қарастырмаған.

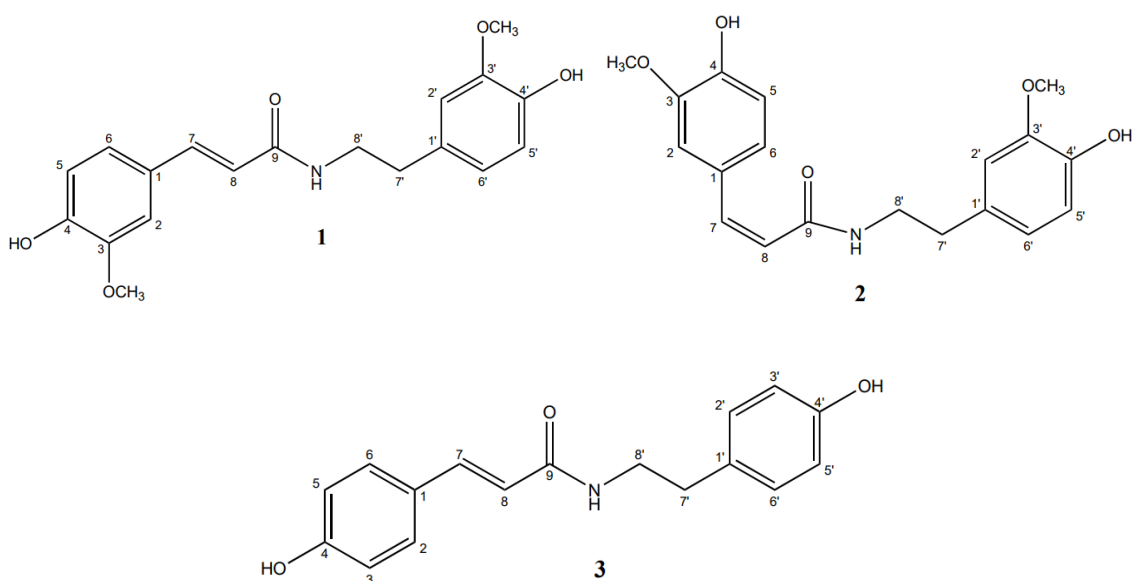


17 – Сурет. *Bassia indica* өсімдігінен бөлінген N-[(3-(3-метил-1-оксобутил)амин)пропил]-3-(3,4-дигидроксифенил)-проп-2-энамидтің құлымы

б) Кумар қышқылының амидті туындыларын алуда биоараластырғыштарды қолдану

Уэльс пиязының (*Allium fistulosum* L.) жер үсті бөлігін 90%-ды метанолмен биоараластырғыш (BM-2 Nissei bio-mixer; Nihonseiki Kaiseiki Ltd., Tokyo, Japan) арқылы бөлме температурасында, 24 сағат бойы экстракциялаған. Содан кейін сығындыны шыны сүзгіден өткізіп, вакуум жағдайында, буландырғыш көмегімен концентрлеген. Метанолды сығындыны фосфатты буфер ерітіндісімен (0.2 М  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  - 0.2 М  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , pH=8.0) суспензиялап, этилацетатта еритін нейтралды фракцияны бөліп алған. Алынған фракцияны силикагель бағаналы хроматографиясында н-гексан/этилацетат/метанол [10:4:1 (A), 8:6:1 (B), 6:8:1 (C), 4:10:1(D) және 2:12:1 (E)] еріткіштер жүйесін қолданып

фракциялаған. А фракциясын Sephadex LH-20 бағанасында метанол/хлороформ - 4:1 еріткіштер жүйесі арқылы хроматографиялаған және А1-А3 фракциялары алынған. А2 фракциясы ары қарай октадецил силан (ODS) бағанасында Н<sub>2</sub>О/метанол (7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, 0:10) еріткіштер жүйесімен хроматографиялау арқылы А2-а - А2-д фракциялары алынған. А2-а фракциясын октадецил силан (ODS) – ЖЭСХ да 60% метанолмен өңдеу арқылы *N-транс*-ферулоил-3'-метокситирамин (**1**), *N-цис*-ферулоил-3'-метокситирамин (**2**) және *N-транс-n*-кумаройлтирамин (**3**) қатарлы қосылыстар бөлінген [53].



18 – Сурет. *Allium fistulosum* L. өсімдігінен бөлінген кумар қышқылының амидті туындыларының құрылымдары

### 1.7 Кумар қышқылының амидті туындыларының биологиялық белсенділіктері

Кумар қышқылының амидтері – өсімдіктерде кездесетін және әр түрлі физиологиялық үрдістерге қатысатын кумар қышқылынан алынатын органикалық қосылыстардың үлкен тобы болып табылады. Бұл қосылыстар биологиялық белсенділіктің кең ауқымын көрсетеді.

#### *α*-Глюкозидазаға қарсы ингибиторлық белсенділігі

*α*-Глюкозидаза (ЕС 3.2.1.20, *α*-D-глюкозид глюкогидролаза) көмірсуларда сапаны бақылау, өңдеу және метаболизм үрдісінде экзо-эсерлі фермент ретінде маңызды рөл атқарады [54]. Атап айтқанда, *α*-глюкозидаза биологиялық тануда эндоплазмалық ретикулумда және жасушаның сыртқы шетінде маңызды қызметке ие, өйткені ол N-байланыстырылған гликопротеидтердің олигосахаридтік тізбектерінде орналасқан [55, 56]. Глюкозидаза көмірсулар

метаболизмінде негізгі қосылыс болып табылады: күрделі көмірсулардың бөлінуін баяулату арқылы глюкозаның тамақтан кейінгі сіңуін *in vivo* жағдайында әлсіретеді, осылайша қандағы қант деңгейін реттейді. Сондықтан глюкозидаза ингибиторы көптеген ауруларды емдеуде қатерлі ісік, иммун тапшылығының вирусы және 2-типті қант диабеті қатарлы ауруларды емдеуде қолданылады [57].

*Tribulus terrestris* өсімдігінің этанол сығындысында  $\alpha$ -глюкозидаза ингибитор потенциалында белсенді ингредиенттер бар екені зерттелген. *Tribulus terrestris* сығындысынан бөлінген кумар қышқылының амидті туындылары *N-транс*-кумароилтирамин, *N-транс*-кофеоилтирамин және *N-транс*-ферулолоктопамин  $\alpha$ -глюкозидазаға қарсы белсенді компоненттер екені анықталған. Алайда *N-транс*-кумароилтирамин  $\alpha$ -глюкозидазаны айтарлықтай тежей алатындығы жетекші құрлымға ие екені зерттелінген (IC<sub>50</sub>  $\frac{1}{4}$  0,42  $\mu$ M). Кумар қышқылы амидтерінің А-сақинасындағы  $\alpha$ ,  $\beta$ -қанықпаған карбонил топтары мен гидроксил тобы глюкозидазаны тежеу үшін маңызды функциялар болып табылады. Молекулярлық модельдеуді зерттеу барысында ингибитор әрекеттерінің тығыз екенін  $\pi$ - $\pi$  әрекеттесуімен, сондай-ақ фермент пен ингибиторлар өзара әрекеттесіп сутектік байланыс түзілуімен түсіндіріледі [58].

#### *Тотығуға және бактерияға қарсы белсенділігі*

Фенолды қосылыстар тотығу үрдісіне қарсы тотықсыздану потенциалы жоғары органикалық заттар болып табылады. Өсімдіктерде кең таралған кейбір фенолды қосылыстар гидроксикумар қышқылдары, олар тотығуға және басқа да биологиялық қасиеттерге ие. Кумар қышқылының амидтері бос радикалдарды жоя алады және жасушаларды тотығу зақымдауынан қорғайды, бұл олардың әр түрлі ауруларда емдік әсеріне оң ықпал етуі мүмкін.

Гидроксикумар қышқылының амидтері дигидрокаферол мен оның синтезделген аналогтары *S. aureus* (MRSA және VRSA) де MIC мәндері бойынша 25 және 50 мкг/мл арасында метициллин және ванкомицин бактериаларына қарсы белсенділік көрсеткен [59].

#### *Микробқа және саңрауқұлақтарға қарсы белсенділігі*

Кумар қышқылының микробқа қарсы белсенділікте маңызды рөл атқаратыны белгілі. Қазіргі кезде *in vitro* микробқа қарсы белсенділігін бағалау үшін олардың физика-химиялық қасиеттері мен микробиологиялық әсерлері арасындағы байланысты зерттеу жұмыстары жүргізілуде. Кумар қышқылдарының күрделі эфирлері, амидтер, альдегидтер және спирттері бактериялар мен саңрауқұлақтарға қарсы айтарлықтай нәтижелер көрсеткен. Кумар қышқылының кейбір амидтері бактериялар мен саңрауқұлақтарға қарсы белсенділік танытаны зерттелген. Олар микробтардың өсуін тежей алады және

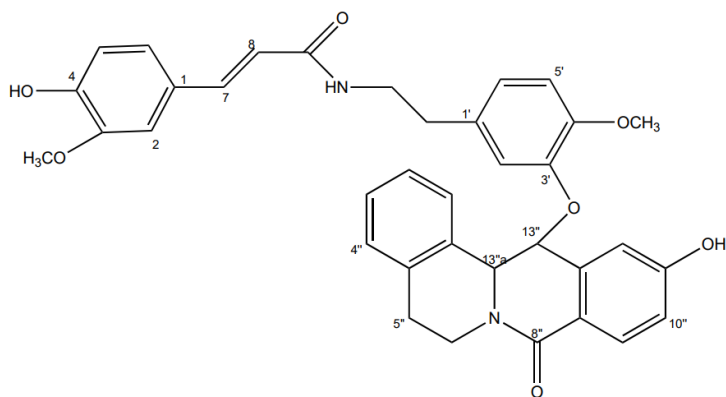
микробқа қарсы потенциалға ие. Кумар қышқылының амиді кумароил дофамин саңырауқұлақтарға және микробқа қарсы белсенділік (MIC = 1,76 μM) қасиет көрсететіні анықталған. Кумароил 2-метилфениламин MIC 114, 139 және 139 μM мәндерінде *B. subtilis*, *E. coli* және *S. aureus* микробтарына қарсы күшті белсенділігі болған [60].

*Қабынуға қарсы белсенділік:* кейбір зерттеулер кумар қышқылының амидтері қабынуға қарсы қасиеттері бар екенін көрсеткен. Олар простагландиндер мен цитокиндер сияқты қабыну медиаторларының өндірісін тежей алады және әр түрлі эксперименттік модельдерде қабынуды азайтады.

*Нейропротекторлық белсенділік:* кумар қышқылы амидтерінің нейропротекторлық қасиеттері бар екені дәлелденген. Олар нейрондарды тотығу стресінен туындаған зақымдаудан қорғай алады және нейродегенеративті ауруларда емдік потенциалға ие болады.

*Ісікке қарсы белсенділік:* кумар қышқылының амидтері *in vitro* және *in vivo* ісікке қарсы белсенділікке ие екені анықталған. Олар апоптозды индукциялай алады, жасуша пролиферациясын тежей алады және ісік өсуін басады. Бұл олардың қатерлі ісік терапиясына әлеуетті үміткер етеді.

Ченольбицин – ісікке қарсы агент ретінде қолданылатын антрациклиндік антибиотиктің бір түрі. Ол сүт безі обырын, лейкемияны және лимфома саркомасы сияқты қатерлі ісіктің әр түрін емдеуде қабілетті екені зерттелген. Атап айтқанда, ол рак жасушаларының ДНҚ синтезі мен репликация үрдістеріне кедергі жасап, олардың көбеюіне жол бермейді және оларды өлтіреді. Ченольбицин – кумар қышқылының амидті алкалоиды болып табылады. Ол *Chenopodium album* өсімдігінің жер үсті бөлігінің метанол сығындысынан бөлінген [61].



19 – Сурет. *Chenopodium album* өсімдігінен бөлінген ісікке қарсы ченольбицин препаратының құрлымы



## 1.8 Препараттық Жоғары эффективті сұйықтық хроматография (ПЖЭСХ) принциптері

Жоғары эффективті сұйықтық хроматография жылжымалы фаза (еріткіш) мен стационарлы фаза (бағана) арасында қосылыстарды бөлу мен тазарту үшін қолданылатын сұйықтық хроматографияның дамыған түрі болып табылады. Бұл үлгінің құрамдас бөліктерін бөлуге қабілеті бар екі фаза арасында жүретін үрдіс. Жоғары эффективті сұйықтық хроматография 2 топқа бөлінеді: Аналитикалық ЖЭСХ – қосылыстарды сапалық және сандық талдау үшін қолданылады, ал препараттық ЖЭСХ – қосылыстарды бөлу мен тазарту үшін пайдаланылады [62].

### 1.8.1 Препараттық ЖЭСХ-ға кіріспе

Препараттық ЖЭСХ термині әдетте үлкен бағандар және жоғары ағын жылдамдығымен байланысты. Алайда, ол препараттық ЖЭСХ жүйесі анықтайтын апараттың өлшемі немесе жылжымалы фазаның мөлшері емес, керісінше бөлудің мақсаты болып табылады. Аналитикалық ЖЭСХ талдауының негізгі мақсаты қосылысты сапалық және сандық анықтау. Препараттық ЖЭСХ жұмысы - құнды өнімдерді оқшаулау және тазарту. Препараттық ЖЭСХ дәстүрлі тазарту әдістері айдау, кристалдау немесе экстракциялау әдістерімен салыстырғанда қымбат, ол сирек немесе қымбат өнімдер үшін ғана қолданылған. Сұраныстың артуымен жоғары белсенділік, токсикология және фармацевтикалық скринингтер бойынша әртүрлі мөлшердегі таза қосылыстар өндірісі үшін препараттық ЖЭСХ жұмыс істеу саласы өзгерді [63].

## 2 – Кесте. Аналитикалық және препараттық ЖЭСХ анықтамасы

Аналитикалық ЖЭСХ	Препараттық ЖЭСХ
Үлгі детектордан қалдықтарға түседі Мақсаты: қосылыстарды анықтау және сандық талдау	Үлгі детектордан фракция жинағыштарға түседі Мақсаты: Қосылыстарды бөлу және тазарту

Препараттық ЖЭСХ химиялық және фармацевтикалық бағалы өнімдерді оқшаулау және тазарту үшін, сондай-ақ биотехнология мен биохимия өнеркәсіптерінде қолданылады. Препараттық ЖЭСХ масштабы қосылыс мөлшерін тазарту дәрежесімен анықталады. Ол қосылыстардың белгілі мөлшерін бөлу немесе тазарту жұмыс аймағымен ерекшеленеді. Осы орайда биотехнологияда өте аз мөлшердегі мкг ферменттерді микро тазарту масштабы туралы айта кеткен жөн. ЖЭСХ табиғи қосылыстар химиясы мен органикалық

синтезде 1 мг немесе бірнеше мг белгісіз заттарды идентификациялау немесе құрылымдық талдау үшін өте маңызды.

### 3 – Кесте. Препараттық ЖЭСХ жұмыс істеу аймағы

Қосылыс мөлшері	Жұмыс аймағы
мкг	Ферменттерді бөлу
мг	Биологиялық және биохимиялық тексеру Құрлымдық талдау және бөлу: - Өндірістің қосалқы өнімдері - Биологиялық жүйедегі метаболиттер - Табиғи қосылыстар
г	Анықтамалық қосылыстар (Аналитикалық стандарттар) - Тазалығы жоғары негізгі қосылыстар - Қосалқы өнімдерді бөлу
кг	Өндірістік масштаб, белсенді қосылыстар, препараттар

Препараттық ЖЭСХ табиғи қосылыстарды бөлу мен тазартудың негізгі құралы ретінде пайда болды. Қазіргі уақытта қалыпты фаза, кері фаза гельді өткізу хроматографиясы және ион алмасу қатарлы әртүрлі режимде жұмыс істейтін ЖЭСХ табиғи қосылыстардың көпшілігін тазарту үшін пайдаланылады [64, 65].

#### 1.8.2 Препараттық ЖЭСХ-дағы бағананың рөлі

Бағана сұйық хроматографияның жүрегі болып табылады деп жиі айтылады. Бағана мен жылжымалы фазаны қате талдау мақсатты өнімдердің сапасын төмендетеді және қымбат құралдарымызды жарамсыз етуі мүмкін. Қайталанатын ЖЭСХ әдісін дамытуда бағананың атқаратын рөлі өте маңызды. Қай жұмыс режимін пайдалану керектігін шешу сығындының немесе қоспаның әртүрлілігімен үйлесімділігі туралы бағана режимдеріне тәуелді стационарлы фаза, қолданылатын бағананың дайындығы және элюция үшін пайдаланылатын еріткіштер арқылы анықталады. Бұл айтылған тұжырымдар препараттық ЖЭСХ үшін де өте маңызды, өйткені инъекциялық еріткіште ерігіштігі шектеулі немесе жылжымалы фазамен мамандар жиі жұмыс істейді және үлгінің үлкен көлемдегі инъекциялар жиі (өткізу қабілеттілігін арттыру үшін) пайдаланылған, жарамсыз бағанның жылжымалы фазалық комбинациясының ықтимал ақаулары қымбат кең ұңғымаларды бүлдіріп, дайындық колонналары мен аспаптарды жарамсыз етеді [66, 67].

Препараттық хроматографияның анықтамасы әрқашан бұлыңғыр және мамандардың көзіне тәуелді болды, өйткені инъекцияланған немесе жиналған үлгінің массасы қол жетімді мөлшерге, үлгі күрделілігіне немесе мақсатты пайдалануға байланысты. Кейбіреулер үшін бірнеше микрограмм материал әрі қарай сипаттау немесе қолдану үшін жеткілікті болса, ал кейбір мамандар үшін

ондаған грамм препарат мөлшері керек болады. Осы орайда бағананың тазалық талаптары және үлгіні өткізу қабілеті (яғни материалдың мөлшері немесе шығымдылық уақыт бірлігі) де ескерілуі керек.

Аналитикалық ЖЭСХ да бөлінулер Ленгмюр тәріздес изотермалар және рұқсат теңдеуіне қатаң бағынады. Ал препараттық ЖЭСХ бағандарында (және кейде қатты) шамадан тыс жүктелген нақты изотермалар және жалпы қабылданған қатынастар сандық түрде қолданылмайды. Мысалы, аналитикалық ЖЭСХ да қабылданған баған сыйымдылығының анықтамасында үлгінің массасы инъекцияланған, бұл баған тиімділігінің 10% төмендеуіне әкеледі. Препаративті хроматографияда бағананың сыйымдылығы көбінесе дәл анықталмайды, өйткені енгізілген үлгі мөлшері белгіленген мәннен асып кетуі мүмкін. Препаративті хроматографиядағы үлгінің шамадан тыс жүктемесі таза немесе қалпына келтірілетін өнімдердің бөлуіне кедергі болады [68].

#### *1.8.2.1 Препараттық хроматографияда сәйкес режимді және стационарлық фазаны таңдау.*

Аналитикалық хроматографияның препаративті масштабында теория бойынша бірдей бөлу әдістері қолданылады. Алайда, бұл жоғары өнімділікті препаративті құралдардың бағасы мен қол жетімділігіне, жылжымалы фаза мен жылжымалы фазалық қоспаның құнына, жоғары өткізу қабілетіне қойылатын талаптарға және бөлінген фракциялардың тазалық дәрежесіне байланысты, пайдаланушылар адсорбцияның және кері фазалық хроматографияның танымал әдістерін пайдаланудан бас тарта алады [69].

Препараттық хроматографияда қарастырылатын бір мәселе әдетте, аналитикалық хроматографиядан маңыздылығы бағананың сыйымдылығы төмен болады. Препараттық ЖЭСХ-ның негізгі критерийі өткізу қабілеті (яғни уақыт бірлігінде тазартылған материал мөлшері), яғни жоғары сыйымдылықты бағандар бір инъекцияда көбірек материалды өңдей алады. Адсорбциялық хроматография үшін бетінің ауданы адсорбент сыйымдылығын белгілейді. Жоғары беттік ауданды сорбент төменгі бетке қарағанда үлкен массалық инъекцияға мүмкіндік беретін аймақтық сорбент болып табылады. Кері фазаланған хроматографияда талданатын заттың ерігіштігіне қосымша байланыстырылған фазалық қамту үлгі сыйымдылығын анықтайды [70].

Беттік жабу үнемі микромоль/м<sup>2</sup> түрінде көрсетіледі. Кәдімгі силикагельді қаптаманы байланыстыру үшін шамамен 8 микромоль/м<sup>2</sup> беттік силанолдар бар. Адсорбциялық хроматографияда силанол тобы талданатын затты ұстауға жауап береді, бетінің ауданы неғұрлым үлкен және силанолдар саны көп болса ұсталуы соғұрлым көп болады. Кері фазалық хроматографияда, анықталатын заттағы алкил және арил топтары арасындағы гидрофобты әрекеттесу байланысқан фазада анықталады. Типтік мономерлі С18 байланысқан фаза үшін беттік фазалық қамту диапазоны әдетте 2,5-3-микромоль/м<sup>2</sup> ішінде

болады. Ажыратымдылық аналитикалық хроматография мен препаративті хроматографияда ең маңызды фактор ретінде қарастырылады. Дегенмен, препараттық ЖЭСХ-да бағандар жиі болғандықтан шыңдар кеңейеді және препараттық ЖЭСХ-ны тиімді қолдану үшін селективтілік ең маңызды рөл атқарады. Егер селективтілік екі компоненттер үлгісі арасында болса, бөліну жоғары деңгейде жүреді. Осылайша стационарлық фазаны таңдау мақсатты компоненттердің селективтілігін реттеуде маңызды рөл атқарады. 4-кестеде ZORBAX RPC бағандары үшін үлгі сыйымдылығы туралы нұсқаулар  $\alpha$  функциясы ретінде (селективтілік) кейбір мәліметтер берілген. Нақты үлгі сыйымдылығы үлгі құрамдастары үшін сынақ және қате өлшеу арқылы анықталуы мүмкін [71, 72].

4 – Кесте. Препараттық HPLC бағандарының сыйымдылығы бойынша нұсқаулық

Баған ID	$\alpha < 1,2$	$\alpha > 1,5$
4,6	2-3	20-30
9,4	10-20	100-200
21,2	50-100	500-200

#### 1.8.2.2 Бөлшектер мен бағана өлшемдері

Бөлшектердің өлшемі аналитикалық ЖЭСХ үшін маңызды параметр болып табылады. Әдетте, бөлшектердің кішігірім өлшемі тиімділігін арттырады және қысқарак бағандарды пайдалану бөлу жылдамдығын жоғарлатуға мүмкіндік береді. Препаративті хроматографияда бөлшектердің өлшемдері маңызды, бірақ бағана шамадан тыс жүктелген күйде қолданылуы мүмкін. Кішірек және қымбатырақ орташа диаметрі 1,8 және 3,5 мкм бөлшектер аналитикалық бағандарда пайдаланылады, әдетте үлкенірек масштабтағы препаративті бағандарда пайдаланылмайды. Егер үлгі өте күрделі болса, қосылыстар арасында нашар ажыратымдылықпен және селективтілігімен шамадан тыс жүктеу кейде қиын болады, содан кейін 5 мкм бөлшектер жиі қолданылады. Жақсы бөлінетін үлгілер үшін 7 және 10 мкм бөлшектерді пайдалануға болады [73].

Баған өлшемдері материалдың көлеміне байланысты. Әдетте шағын масштабты препараттық ЖЭСХ үшін 4,6 мм i.d. бағандар, жартылай препаратты ЖЭСХ үшін 7,8 мм i.d. бағандар және үлкенірек шкаласының препараттық ЖЭСХ үшін 21,2 мм i.d. бағандар қолданылады. Одан да үлкен диаметрлі бағандар 30 мм және 50 мм өлшемдері одан да жоғары деңгейлер үшін пайдаланылады. Бұл диаметрлерден тыс үлкенірек қажет болуы мүмкін қабілетті масштабты дайындау және технологиялық аспаптардың өте жоғары

ағын жылдамдығы (бір минутта жүздеген миллилитр) және еріткіштерді пайдалану дәрежесін жоғарлатады [74].

### *1.8.2.3 Жылжымалы фазаны таңдау*

Жылжымалы фазаны таңдау еріткіштер жүйесінде аналитикалық әдістерді дамыту барысында жүзеге асырылады. Еріткіштерді таңдауға әсер ететін факторлар мыналар:

- Мақсатты өнімдер үшін стационарлық фаза мен жылжымалы фазаның оптималды селективтілігі;
- Жылжымалы фазалық еріткіштердің спектроскопиялық сипаттамалары (яғни ультракүлгін мөлдірлігі, флуоресценция қасиеттері, масс спектроскопиялық үйлесімділік);
- Оқшауланған фракциялардан оңай шығаруға арналған жылжымалылық;
- Бағананың кері қысым тұтқырлығы;
- Төмен деңгейдегі ұшпайтын ластаушы заттардың тазалығы;
- Үлгінің максималды жүктемесіндегі ерігіштік қасиеттері;
- Қолданылатын еріткіштердің өзіндік құны [75]:

Қалыпты фазалық хроматографияда қолданылатын еріткіштер жүйесі жоғарыда аталған критерилерге бағынады. Аналитикалық кері фазалы хроматографияда буферлік тұздар  $p^H$  мәнін реттеу және керексіз қалдықтардың шыңын болдырмау үшін қолданылады. Препараттық масштабтың аналитикалық бөлінулерін дамытуда буфер немесе аммоний сияқты жылжымалы фазалық қоспа қолданылады [76].

### *1.8.2.4 Препараттық хроматографияны сәтті пайдалану*

Аналитикалық ЖЭСХ ның көптеген факторлары препараттық ЖЭСХ-да кең таралған, бірақ препараттық ЖЭСХ-да кейде көп факторлар бар. Препараттық ЖЭСХ-ға қолданылатын үлгілердің барлығы қоспалар болғандықтан бағананың басында ластаушы болып жиналып, жойылмайтын шың пішіні пайда болады және қосылыстардың бөліну уақытын өзгертеді. Кейде жинақталған қоспалар бөлінуге әсер етпейді және бағананың қысымын өзгертеді, яғни қысымның жоғарлауын қадағалау керек. Бағананы жиналған қоспалардан тазарту үшін күшті еріткіштермен жиі жуып тұру қажет.

Керексіз қоспалардың жиналуы көбінесе инъекциялық еріткіштер жылжымалы фаза еріткіштерінен әлсіз болған жағдайда қапталған бағаналарда орын алады. Бағананы қоспалардан тазарту үшін күшті градиентті еріткіштер қолданылады. Силикагель сорбенттері полярлы аналиттерді әсіресе негіздік қоспаларды ұстайды, ал кері фазаланған қаптамалар көбінесе гидрофобты қосылыстарды ұстауға бейім болады [77].

### 1.8.3 ЖЭСХ-ны тазалау жүйесі мен детекторлары

Нарықтағы фракция жинағыштардың (collector) дизайны мен өлшемі әртүрлі болады. Микро фракциялық жинағыш 100 мкл/мин төмен ағын жылдамдығына арналған, аналитикалық шкала фракциясының жинағыштарына негізделген ағын жылдамдығы 10 мл/мин төмен және препараттық шкала фракциясының жинағыштары 100 мл/мин ағын жылдамдығына арналған. Кейбір аспаптарда автоүлгілеуші (autosampler) мен фракция коллекторды біріктірген бір платформада болады, біреуі инъекцияға, екіншісі фракцияға арналған жинақ болады. Фракцияларды жинау үшін флакондар, пробиркалар немесе ұңғыма пластиналар қолданылады, фракция жинағыштардың көпшілігі сол бөлшек контейнерлердің барлығын өңдей алады.

Препараттық ЖЭСХ – да калибрлеу процедурасы детектор мен фракция жинағышы арасындағы кідіріс уақытын анықтау үшін қолданылады. Кідірісті калибрлеу дәстүрлі әдістерге қолданылса, Agilent Technologies фракциялық кідірісі үшін сенсорлы озық әдістер сипатталған [78].

#### *ЖЭСХ детекторлары*

ЖЭСХ жүйесінде детектор физикалық немесе химиялық атрибутты концентрацияға немесе сәйкес өлшенетін сигналға айналдыруға жауапты құрамдас бөлік болып табылады [62]. Ертеде фракцияларды жинау көбінесе оларды желіден тыс талдау арқылы анықталатын. ЖЭСХ үшін алғашқы онлайн детекторлар 1940 және 1950 жылдары ғана енгізілген. ЖЭСХ үшін сезімтал әмбебап детекторлар зерттеушілерді газды хроматография детекторларын ЖЭСХ-де қолданылуын бейімдеуге әкелген. ЖЭСХ детекторлары кейбір физикалық немесе химиялық атрибутты артықшылықтарды пайдалануға арналған еріген заттың немесе жылжымалы фазаның хроматографиялық үрдісі төрт түрлі әдіспен жүзеге асады [79, 80]:

- Көлемдік қасиет немесе дифференциалды өлшем;
- Талдаушыға тән қасиеттер;
- Жылжымалы фазалық модификация;
- Дефистелген әдістер.

Көлемдік қасиет детекторлары ЖЭСХ үшін ең әмбебап детекторлар, олар айырмашылықтарды өлшеу арқылы барлық талданатын заттарға ортақ қасиеттерді үлгі мен жылжымалы фаза арасын реттейді. Ең көп таралған көлемдік қасиет детекторларының бірі сыну көрсеткішінің детекторы болып табылады. Көлемді қасиет детекторларының әмбебап сипаты, олар барлық анализаторларды қадағалайды, хроматографиялық бағананың селективтілігіне көбірек көңіл бөледі. Ультракүлгін детектор – талдаушыға тән қасиетті детекторларда ең көп таралған детектор болып табылады, ультракүлгін сәулесін сіңіретін белгілі бір толқын ұзындығындағы жарық аналиттерді қадағалайды.



Жылжымалы фазаны модификациялау детекторлары жылжымалы фазаны өзгертеді, талданатын заттың қасиеттерінің өзгеруін индукциялайды. Дефистелген әдістер жеке тәуелсіз аналитикалық технологияның ЖЭСХ жүйесіне қосылуын білдіреді. Масс-спектрометрия (LC-MS), инфрақызыл спектрометрия (LC-IR) және ядролы магниттік резонанс (LC-NMR) сияқты технологиялар қолданылады [81, 82].

#### *1.8.3.1 ЖЭСХ-ны қалпына келтіру үшін жүйені оңтайландыру*

Препараттық ЖЭСХ-да жиі назардан тыс қалған параметр дисперсия, бұл қосылыс капилляр арқылы қозғалғанда кеңеюдің шыңы болып табылады. Шың анықталған кезде детекторда дисперсия капилляр арқылы қозғалып фракциялық жинағышқа белгілі бір ұзындықта жетеді, сондай-ақ пик пішінінің өзгеруіне әкеледі. Фракцияны триггерлеу детектордағы шың пішініне негізделген, сондықтан бөлінген қосылыстың құрамының қалпына келуі мен тазалығы әрқашан күткендей бола бермейді. Сондықтан апаратқа тазарту жүйесін орнатқанда детектор мен фракция жинағышы арасындағы капиллярлық байланыстар оңтайландырылған болуы керек. Капиллярлық байланысты қалпына келтіру мүмкін болмаған жағдайда, дисперсияны төмен деңгейде тазарту үшін ағын жылдамдығы өте маңызды, ол әдетте 25-35 мл/мин жылдамдықпен жүргізіледі [83].

Препараттық ЖЭСХ-ны жуып-тазалау үшін ацетонитрил немесе метанол сияқты қауіпті органикалық еріткіштердің көлемі аналитикалық ЖЭСХ қарағанда әлдеқайда жоғары болады. Сондықтан аталған еріткіштердің төгілуін болдырмау үшін сақ болу керек. Фракция құрамында буланып кететін органикалық еріткіштің көп мөлшері болғандықтан зертханада тартқыш шкаф астында дер кезінде кептіріледі. Тазарту жүйесі операторға және зертханалық ортаға қауіп төндірмейтін қауіпсіздік құралдарымен жабдықталуы керек [84].

#### *1.8.4 ЖЭСХ, Фракцияларды жинау стратегиялары*

Фракцияларды жинау үшін келесі триггер механизмдері түсіндіріледі:

- *Фракцияларды қолмен жинау*

Оператор фракцияларды жинау барысында детектор шыңдарына негізделіп флакондарды қолмен ауыстырып отырады.

- *Уақыт бойынша фракцияларды жинау*

Тазарту жұмысы барысында оператор фракцияларды белгілі бір уақыт аралықтарын жинайды.

- *Шыңға негізделіп фракцияларды жинау*

Детектор сигналына негізделіп жинау

- *Масса негізіндегі фракция жинау*

Пайдаланушыда таңдаған мақсатты масса болса, фракциялық жинау MSD арқылы табылады.

#### *Фракцияларды қолмен жинау*

Фракцияларды қолмен жинау ең жоғары икемділікті талап етеді, өйткені қосылыстарды тазартудың қажетті бөліктері ғана жиналады. Бұл әдістің кемшілігі автоматтандырудың болмауы және қол жеткізуге болатын ең қарапайым әдіс. Сондықтан фракцияларды қолмен жинау әдетте төмендегілер үшін ғана пайдаланылады:

- Өткізу қабілеті төмен қолданбалар;
- Өте құнды үлгілер;
- Қолмен жинау қауіпсіздік мүмкіндігі ретінде автоматтандырылған тазарту жұмысы.

Фракцияларды қолмен жинау үшін екі аспект маңызды болып табылады: Біріншіден, фракциялардың бөлінетін уақыт интервалы ұзақ болған жағдайда қолданылады. Екіншіден, сигнал жүйесі қажет нақты уақыт сюжеті болуы керек, яғни детектордағы өлшеу мен көрсетілген сигнал арасында кідіріс болмауы керек [85].

#### *Шыңға негізделіп фракцияларды жинау*

Шыңға негізделіп фракцияларды жинау автоматтандырылған әдіс болып табылады, ультракүлгін детектор сигналы негізінде фракцияларды жинау өте жиі қолданылады. Бұл әдісті пайдалануға шешім қабылдау үшін, қолданылатын параметр ретінде хроматограммадағы шыңның пайда болуы. Шыңға негізделген фракцияларды жинаудың ең оңай жолын іске қосу үшін: фракция бөлінетін шыңның басталу ауданы мен сигнал белгіленген шекті жиынтықтан төмен түсетін аудан арасында анықталады [86].

#### *Масса негізіндегі фракция жинау*

Шың негізіндегі фракциялық жинақтауда барлық қосылыстар бөлінеді, олардың шындары триггерлеу критерийлеріне сәйкес келгенде жинақталады. Тек қажетті массасы бар қосылыс таңдамалы түрде массалық үлесті жинау кезінде жасақталады. Сондықтан жиналған фракциялардың саны шыңға негізделген фракциялық жинаққа қарағанда әлдеқайда аз болады. Масса негізіндегі фракцияларды табысты жинау үшін екі талапты орындау керек: мақсатты қосылыстың молекулалық массасы белгілі болуы керек және қосылыстың MSD арқылы иондалуы анықталуы қажет [87, 88].

### 1.8.5 ЖЭСХ, Қолданбалы шешімдер

Препараттық ЖЭСХ-ның қолданыс аясы және мүмкін болатын мәселелер:

- Дәрілік немесе жоғары өнімді химиялық заттарды тазарту;
- Табиғи қосылыстар химиясындағы заттарды тазарту;
- Қоспаларды жанама өнімдерден тазарту;
- Бағанның шамадан тыс жүктелуі;
  - а) Жоғары концентрациялы үлгілерді инъекциялау
  - б) Жоғары көлемді үлгілерді инъекциялау
- Қалпына келтіру жинағы;
- Автоматтандырылған фракцияларды қайта талдау;

#### *Дәрілік немесе жоғары өнімді химиялық заттарды тазарту*

Бүгінгі күні дәрілік заттарды жасайтын қосылыстардың көпшілігі медициналық немесе жоғары өнімді химиялық топтары бойынша синтезделеді. Жоғары өнімді химиялық заттар синтездеу арқылы дәрілік масаттағы препараттарды жасау үрдісі артып келеді, мұндай препараттардың биологиялық нәтижесі шамалы. Синтезделген қосылыстар биологиялық белсенділігі тексерілмес бұрын тазартудан өтуі керек. Масса негізіндегі фракциялық жинауда есептелген молекулалық масса тазалау әдісі болып табылады. Синтезделген қосылыстардың молекулалық құрылымы белгілі, бірақ олардың қол жетімді мөлшері жеткілікті емес [89]. Жоғары өнімді химиялық заттарды синтездеу ЖЭСХ да жасалмайды, химиялық тобы бойынша химиктер өздері синтездейді. Препараттық ЖЭСХ бұл топтарды тек тазарту үшін ғана емес, сонымен қатар тазарту және қайта құрастыру үрдісін атқарады. Медициналық химияда синтезделген химиялық заттар тобы үшін тазарту үрдісі жиі жасалады, өйткені тазартылатын қосылыстардың саны жоғары, өнімді химиялық заттарға қарағанда әлдеқайда көп [90].

#### *Табиғи қосылыстар химиясындағы заттарды тазарту*

Табиғи қосылыстар химиясының дәстүрлі міндеті табиғи шикізат сығындысынан биологиялық белсенді қосылыстарды бөліп алу. Яғни белсенді заттардың құрылымы белгісіз болады, масс негізіндегі фракцияларды жинау үрдісінде қосылыстардың молекулалық массасын есептеу мүмкін емес, сондықтан уақыт немесе шыңға негізделген фракциялық жинақтар арқылы қосылыстарды бөлу тиімді әдіс. Табиғи сығынды өте күрделі, қоспаны тазалау үрдісі әдетте бірнеше дәйекті тазарту әдістерінен тұрады. Белсенділік сынағын тексеру үшін таза өнімге қол жеткізгенге дейінгі қадамдар құрылымын түсіндіру бойынша көптеген әдістер жасалады. Негізінде, сығындыдан мүмкіндігінше көп қосылыстар бөлінеді, қайтадан қатарынан уақыт пен шыңға

негізделген фракция жинағышты пайдаланып тазарту жұмыстары жасалады [91].

Табиғи қосылыстарды жүйелі тазартудың талаптары:

- Уақыт пен шыңға негізделген фракциялық жинау;
- Қиын үлгілер үшін беріктік;  
(үлгілердегі бөлшектер немесе жасушалар)
- Ағып кету сенсорлары сияқты қауіпсіздік мүмкіндіктері (қараусыз жұмыс істеу үшін) [92].

### **1.9 Жоғары критикалық флюиді CO<sub>2</sub> – экстракцияның жетістіктері мен қолданылуы**

Бүгінгі күні әлемде жоғары критикалық флюидті технологиялардың практикалық қолданылуының 80-нен астам аймағы мәлім. Мұнда Германия, АҚШ, Үндістан, Қытай және басқа да елдер жетістіктерге жетіп жатыр.

Жоғарыкритикалық ортада өсімдік шикізатын өңдеу Азия елдерінің өнеркәсіптеріне белсенді енгізілуде. Ең алдымен өсімдік шикізатының флористикалық құрамының ерекшелігіне байланысты. Екіншіден, бұл елдердің фитотерапия облысында көп ғасырлық дәстүрі бар және олардың тәжірибесі бүкіл әлем фитофармацевтикасының дамуына объективті әсер етеді. Бұл елдердің тәжірибесі көп ғасырлардан бері жиналған халық медицинасындағы бөлімін қазіргі заман технологияларымен біріктіруінің бір артықшылығы экономиялық тиімділігі [93].

Оңтүстік Шығыс Азия үнемі дәстүрлі медицина аймағындағы білімнің сақтаушысы болды, оның негізі табиғи дәрілік заттарды қолдану болып табылады. Бұл аумақтағы елдердің халық медицинасы өсімдік шикізатын оған минималды әсер ету арқылы дәрілік заттарды алуға негізделген.

Жүздеген жылдар бойы жоғарыкритикалық флюидті CO<sub>2</sub>-экстракция технологиясын енгізуде жиналған практикалық тәжірибе ерекше маркетингтік жолды қамтамасыз етті: өндірістік көлемде шығарылымды ұйымдастыру кезінде дәстүрлік халықтық «брендтерді» анықтау және пайдалану, ал бірқатар жағдайларда - сапаның елеулі жоғарылауын тудыру [94].

1993 жылдың өзінде Үндістанда тамақ өнімдері өнеркәсібі үдерістерінің технологиялық өндеулері бойынша Миссия жобаларының жұмыстары басталған. Аумақтық елдер мүддесінде Үндістан үкіметінің жоспарлауы бойынша комиссиялар: Шри – Ланка, Индонезия, Малайзия, Пәкістан, Бангладеш, Непал, Қытай және Үндістанның өзі болған. Сонымен қатар, өнеркәсіптің жеке салаларының мүддесінде бірқатар технологияларды енгізу жобалары қарастырылған. 9 жыл бойы жалғасқан зерттеулер негізінде (қалампыр, кардамон, тмин, имбирь, және т.б) дәмдік экстрактілерін және фармакологиялық экстрактілерді алуға бағытталған. Зерттеу барысында табиғи

пестицидтер өндірісі, холестеринсіз тамақ өнімдерінің өндірісі, тамақ бояғыштары мен консерванттарды алу сияқты басқа да бағыттар қарастырылған [95].

Бұл жобалардың орындалуының нәтижесі болып, ЖКФ технологияларын қолданатын, әр түрлі шикізаттардан дайын өнімге дейін өндірістің толық циклін жүзеге асыратын коммерциялық фирмалар пайда болған. Мұндай кәсіпорындардың мысалы ретінде *Pioneer Enterprise* бола алады. Бірақ бұл жобалардың қатысушы – елдермен маңызды техникалық міндеті - өз өндірісінің жоғары қысымды насостарын шығару шешілмеді. Бұл жабдық батыс Еуропа елдерінде сатылып алынады, ал ол өндіріс құнын аздап қымбаттатады. Аумақтағы фирмалары шығаратын өнімдер Ресейде және шығыс пен батыс Еуропа елдерінде оңтайлы жүзеге асырылған [96].

Жоғары критикалық флюидті экстракция технологиясы Қытайда өте қарқынды дамуда. Үндістанда негізгі назар ЖКФ-ты тамақ құрамдастарын өндіргенде пайдалануға көзделсе, Қытайда фитофармацевтикалық препараттарды жасауға қолданылады [97].

Жоғарыкритикалық флюидті экстрактор органикалық еріткіштерді пайдаланбай қатты үлгілерден органикалық заттарды бөлу және концентрлеу үшін арналған, онда экстракциялауға тиімді ерітінді ретінде көміртек диоксидінің жоғарыкритикалық жағдайы: 32-100°C температура және 73-400 атмосфералық қысымды пайдалану қажет. Бұл әдіс экстракция уақытын он есеге дейін қысқартуға және экстракция үдерісін толық автоматтандыруға мүмкіндік береді.

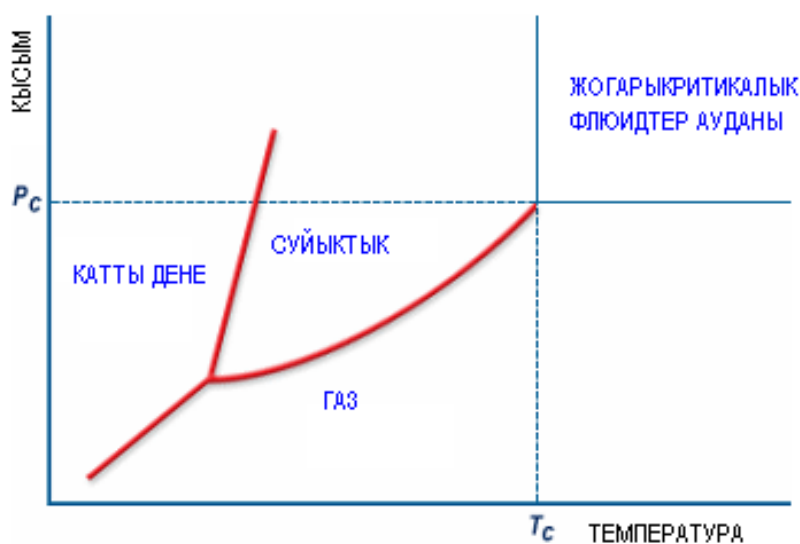
ЖКФЭ - әдісі келесі заттарды экстракциялау үшін тиімді қолданылады: дизбендиоксидтер, полиароматты көмірсутектер, пестициттер, қоршаған орта объектілерінен көмірсутекті отынның қалдықтарын, пластмассадан жасалған стабилизаторлар мен пластификаторларды, терпендердің, альдегидтердің, стероидтардың, майда еритін А, Е, К дәрумендерінің өсімдік шикізатынан жасалған дәрілік заттардың, радиоактивті элементтерді дезактивациялауда, нативті үлгілердегі ауыр металдардың іздерін жоюда қолданылады [98].

Көп жағдайда ЖКФ-экстракциясында еріткішті регенерациялау үшін энергия тұтыну дәстүрлі экстракцияға қарағанда азырақ болады. Сонымен қатар жүйедегі артық қысым экстракция кезінде оттегінің өтіп кетуін алдын алады, қышқылдану үрдістерінің жүзеге аспауын қамтамасыз етеді. Мысалы, валериана тамырынан валеопотриаттар, түймедақ (проазулендері) және жусан проазулендері немесе айырдан алынған лабильді сесквитерпенкетондар нативті күйде қандай да бір химиялық өзгеріссіз бөліне алады [99].

Жоғарыкритикалық флюиді параметрлер (кез келген температурада қысым 73,8 атм. жоғары болуы) жүйені қиындатады, себебі экстрагент жоғарыкритикалық жағдайға әкелініп қана қоймай, тек газ немесе сұйықтық фазасында емес, осылардың шекарасында анықталған параметрлерде

экстракциялайтын ағын тудыру керек. Жоғарыкритикалық экстракцияның мүмкіншіліктері әлі де толық зерттелмеген, дегенмен қазірдің өзінде қызықты практикалық нәтижелер алынып жатыр.

Жоғарғы критикалық флюиді жағдайға дейінгі аудандарда (73,8 атм-дан төмен қысымда) көмір қышқыл газы сұйытылған жағдайда пайдаланылады. Бұл технологиялық жабдықтағы кейбір өзгешеліктерден басқа алынатын биологиялық белсенді заттардың спектрінің жоғарыкритикалық параметрлермен салыстырғанда азаюын білдіреді, сонымен қатар экстракцияның бір циклін өткізуге қажетті уақыттың елеулі өзгеруін (4 сағаттан көбірек), мәні бойынша бұл сулы спиртті экстракция нұсқасына жақын, бірақта еріткіштің әсер ету ауданы едәуір кең келеді [100, 101].



20 – Сурет. Жоғарыкритикалық флюидті экстракция параметрлері

Көмір қышқыл газымен экстракция Ресейде бұрыннан белгілі 60-жылдардың өзінде Краснодарлық және Мәскеулік Пехов пен Касьянов ғалымдарының қолдауымен  $\text{CO}_2$  экстракторының өндірісі бойынша өндірістік цехтары ашылған. Әділдік үшін,  $\text{CO}_2$  экстракциясының әлемдік тәжірибеде өндірістік пайдаланудан Ресейдің біріншілігін атап өту қажет. Ғалымдардың зерттеулері жоғарыкритикалық жағдайларда әртүрлі заттардың (шамамен 15) бірегей қасиеттерін анық зерттелген [102].



## 5- Кесте. Кейбір газдардың жоғарыкритикалық жағдайға көшу параметрлері

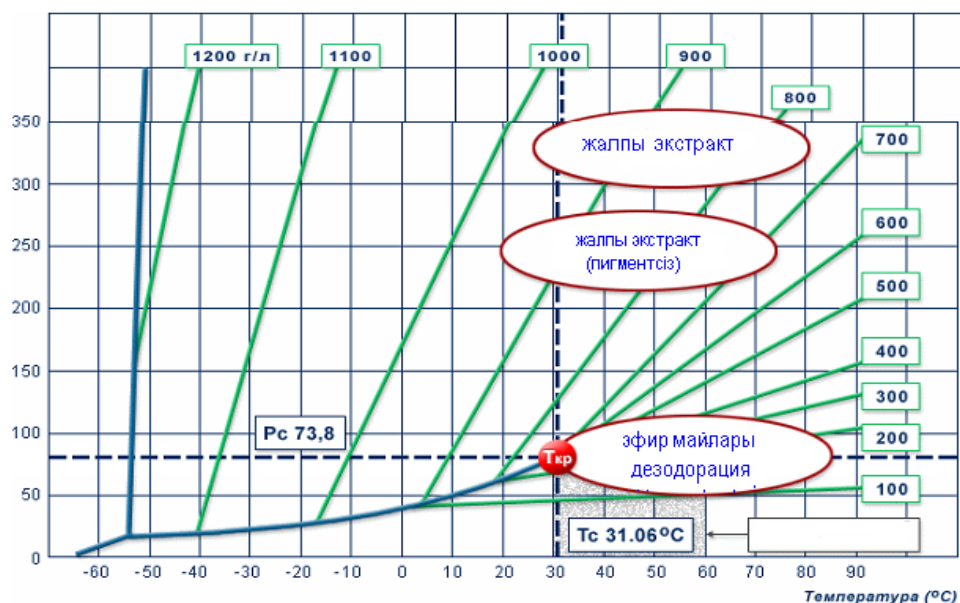
Газдың атауы	Критикалық нүктесінің температурасы (°C)	Критикалық нүктесінің қысымы (атм.)	Критикалық тығыздығы (г/см <sup>3</sup> )
Трифторметан	25.9	46.9	0.52
Көмірқышқыл газы	31.0	72.9	0.47
Этан	32.2	48.2	0.2
Азот тотығы	36.5	71.7	0.46
Күкіртті гексафторид	45.6	37.7	0.73
Пропилен	91.9	45.4	0.22

Жоғарыкритикалық газдардың жоғары экстрагирлеуші қабілеттілікке және сәйкес жағдайларда жеткілікті селективтілікке ие, экстракция кезінде де, бөлу үдерісі кезінде де, қысым мен температура шарттарын өзгерту арқылы экстрактідегі заттың концентрациясын реттеуге болады. Соңғы кезде жоғарыкритикалық газдар полимерлерді өңдеу облысында нанобөлшектерді қалыптастыруға, синтезді және биоматериалдарды алуда импрегнация және микрокеукті материалдарды жасағанда, металлдар экстракциясында қолданылады. Қазіргі уақытта өнеркәсіп секторында жоғары критикалық технологияны шай, кофе, темекі өңдеу үшін, бастапқы шикізаттан бөлу мақсатында, сонымен қатар, өнеркәсіптің сан алуан салаларында қолданыс табатын табиғи өсімдік экстрактілерін алу үшін пайдалануда ең көп табысқа ие [103].

Нақ осы жоғарыкритикалық параметрлері еріткіш ретінде алынған CO<sub>2</sub> газының селективтілігін шұғыл өзгертеді, яғни температура мен қысымның аздаған өзгерістерімен өсімдік туыстас табиғи шикізатты экстракциялау кезінде биологиялық белсенді заттардың толық алынуын қамтамасыз ете отырып, жоғарыкритикалық экстракция үрдісін реттеуге мүмкіндік береді [104, 105].

### **1.10 Жоғарыкритикалық жағдайға дейінгі және кейінгі экстракция айырмашылығы**

Екі жағдайда да көміртек диоксиді пайдаланатынына қарамастан, еріткіш өзін әр түрлі формада көрсетеді. Бұл ең алдымен 2 жүйедегі CO<sub>2</sub> еріткіштің әр түрлі тығыздықта болуымен түсіндірілген. Жалпы ереже бойынша: еріткіштің ыдысы ерітіндінің тығыздығына байланысты. Мына суретте еру үрдісінің тек температура мен қысымға емес, біріншіден тығыздыққа тәуелділігін көрсетеді [106].



21 – Сурет. CO<sub>2</sub> газының еріту қабілетінің температура, қысым және тығыздыққа тәуелділігі

Жоғарыкритикалық жағдайға дейінгі ауданда жүйе температурасын жоғарылатқанда CO<sub>2</sub> еріту қабілеті төмендейтіні байқалған. Шынында, жүйе температурасын жоғарыкритикалық жағдайға дейінгі ауданда жоғарылатқанда, CO<sub>2</sub> газының булануынан булы экстракция әдісін қозғалысқа әкеледі. 19 - суреттен қысым мен температура функциясы ретінде CO<sub>2</sub> газының еріту қабілеттілігін, одан да жоғарлатуға болатындығы көрсетілген. 19-суреттен ЖК ауданға дейінгі CO<sub>2</sub>-нің максималды еріту қабілеті (70 атм. 30 °C параметрлерінде) орташа екенін көруге болады. Бірден тығыздықты көбейту жолымен CO<sub>2</sub> газының еріту қабілетін арттыру мүмкіндігі туады, ол үшін тағы да қысым мен температураны жоғарылату қажет, ол өз кезегінде CO<sub>2</sub> газының жоғарыкритикалық жағдайына ауысуына алып келеді. Бірақ та, CO<sub>2</sub> газының максималды еріту қабілеті бүкіл жоғарыкритикалық ауданда жатпайды. Бұл жағдайдағы еріту қабілетінің көрсеткіші ЖК ауданға дейінгі еріту көрсеткіштерінен әлдеқайда жоғары болғанымен, өте жоғары қысым мен температура қолданылатын ЖК аудандағы еріту көрсеткіштерінен өте төмен. Сонымен, соңғы уақытта жоғарыкритикалық CO<sub>2</sub>-нің амин қышқылдарды еріту туралы (950-1200 атм. қысым) нақты мәліметтер пайда болған. Қазіргі кездегі қарапайым экстракция 250-ден 800 атм. дейінгі аралықта жүргізіледі [107, 108].

Негізінде жоғарыкритикалық CO<sub>2</sub>-экстракция және басқа да полярлы емес ерітінділердің арасында ешқандай айырмашылық жоқ, ендеше ЖК жағдайдағы негізгі ережелер CO<sub>2</sub> газына да қолданылады:

- Еріткіш пен еритін заттың физикалық және химиялық қасиеттері неғұрлым жақын болған сайын ерігіштік соғұрлым жоғары болады;

- Полярлығы белгілі заттардың қатарында заттың молекулалық массасы жоғарылаған сайын заттың ұшқыштығы төмендейді;

- Еріту қабілетінің кез келген артуы берілген ерітетін заттың ерігіштігінің артуына ғана емес, сонымен қатар өлшенерлік көлемде еритін заттар қатары үшін бұл көрсеткіштің артуына алып келеді. Басқаша айтқанда, еріткіш қоспаны құрайтын заттарды, жоғары еріткіш қабілеттілік кезінде сол еріткішті ерітудің төмен қабілеттілігіне қарағанда көбірек ерітеді.

Әлемде CO<sub>2</sub> экстракция технологиясының жағдайы туралы айтсақ. Бұл, біріншіден үдерістің өзі жоғары сұранысқа ие болады және өндіріске пайдалануға ыңғайлы, көптеген өнімдер алуға мүмкіндік береді [109].

Егер температура белгілі бір мөлшерге өскен кезде, интенсификация үдерісінің әсерінен соңғы өнімнің көп мөлшерде бөлінуіне әкеледі, онымен қоса су мен көмірқышқыл газынан тұратын жүйе түзіледі, ол өз кезегінде өсімдік шикізаты құрамындағы кей компоненттері құрылымының өзгеруін тудырады. Ең жарқын мысалы ретінде түймедақтың CO<sub>2</sub> экстракциясын айтуға болады. ЖКФ ауданға дейінгі CO<sub>2</sub> экстракциясы кезінде хамазулендер жеткілікті көлемде бөлінеді, бұл дәстүрлі экстракциямен салыстырғанда жақсы нәтиже. Бірақ та хамазулен жоғары температура әсерінен ыдырау кезінде және түймедақтың хамазуленнен он есе артық алымды биологиялық белсенді компоненті болып табылатын матрицин су буының қатысуымен қалыптасады. ЖКФ аудандағы экстракция тұтас матрицинді экстракциялайды, бұл ЖКФ дейінгі экстракциямен салыстырғанда ЖКФ аудандағы CO<sub>2</sub> экстрактының нормаларын сәйкесінше төмендетуге мүмкіндік береді. Басқа зерттеу жұмыстары да осындай нәтижелер көрсетеді, бірақ бөлінетін заттар спектрінде елеулі айырмашылықтар бар, мысалы: флавоноидтар. ЖКФ ауданға дейінгі экстракция кезінде олар тым аз мөлшерде алынған болса, ЖКФ аудандағы экстракция кезінде оларды бастапқы өсімдік шикізатында болатын түрі мен көлемінде алуға мүмкіндік береді [110].

Әлбетте, мұндай ұйғарымды барлық флавоноидтарға жатқызуға болмайды, бірақ ЖКФ экстракциясының технологиясы кверцитинді де, рутинді де алуға мүмкіндік береді [111].

Жоғарыда айтылғандай ЖКФ үдеріс жағдайы басқарылады, ол өсімдік шикізатынан алынатын қандай да бір компоненттің экстракциясын реттеуге мүмкіндік береді. Бұл үшін бірнеше жол бар: тізбекті орнатылған экстракт жинақтаушылардағы уақытша фракциялау және параметрлерін өзгерту. Дәл осы жол тек қана табиғи тотығу үдерісіне қарсы, консерванттар, бояғыштар, дәмдеуіш заттар сияқты табиғи азықтық ингредиенттерді ғана емес, сонымен қатар фармацевтикалық компоненттерді де алуға мүмкіндік береді [112].

Енді әлемдегі және Ресейде жүргізілген ЖКФ дейінгі және ЖКФ аудандардағы экстракциялардан алынған экстракттардың химиялық құрамын қарайтын болсақ:

6 – Кесте. ЖК ауданға дейінгі және ЖК жағдайдағы еріткіштердің еріту қабілеті

№	Заттар	ЖК ауданға дейінгі	ЖК аудандағы	ЖК ауданда
1	Каротиноидтар	Жылқы	Қызыл	Қызыл
2	Диглицеридтер	Қызыл	Қызыл	Қызыл
3	Моноглицеридтер	Қызыл	Қызыл	Қызыл
4	Стериндер	Қызыл	Қызыл	Қызыл
5	Фосфолипидтер	Қызыл	Қызыл	Қызыл
6	Токоферолдар	Қызыл	Қызыл	Қызыл
7	Терпеноидтар	Қызыл	Қызыл	Қызыл
8	Альдегид, кетондар	Жылқы	Қызыл	Қызыл
9	Күрделі эфирлер		Қызыл	Қызыл
10	Флавон агликондар		Қызыл	Қызыл
11	Спирттер		Қызыл	Қызыл
12	Органикалық қышқылдар		Қызыл	Қызыл
13	Алкалоидтар		Қызыл	Қызыл
14	Тері илегіш заттар		Қызыл	Қызыл
15	Фенолды қосылыстар		Жылқы	Қызыл
16	Гликозидтер		Қызыл	Қызыл
17	Минералды заттар		Жылқы	Қызыл
18	Амин қышқылдары		Қызыл	Қызыл
19	Полисахаридтер			
20	Олигосахаридтер			
21	Ақуыз, пептидтер			
22	Пектиндер			

Біздің елімізде ЖКФ экстракция әлі жеткіліксіз даму сатысында. ЖКФ дейінгі экстракция үдерісі өсімдік майларын, косметикалық ингредиенттерді алу кезінде өте тартымды болуы мүмкін. Азықтың функционалдық ингредиенттер туралы айту қиындау, ал фармацевтикалық құндылықтар туралы, тек ароматерапия аспектісінде айтуға болады [113].

## 2 ТӘЖІРИБЕЛІК БӨЛІМ

### 2.1 Зерттеу материалдары

#### *Өсімдік шикізаты*

Зерттеу нысандары Алабұталар (*Chenopodiaceae*) тұқымдасына жататын *Petrosimonia triandra*, *Petrosimonia glaucescens*, *Petrosimonia brachiata* және *Petrosimonia sibirica* өсімдіктерінің жер үсті бөліктері. Аталған өсімдіктер Алматы обылысы Еңбекшіқазақ және Бақанас аудандарының сортаң жерлерінен 2018 – 2019 жылдары қыркүйек айында жиналған. *Petrosimonia* тектес өсімдіктердің түрлері Алматы қаласы ботаника және фитоинтродукция институтының жетекші мамандарының көмегімен анықталған. Жиналған өсімдіктер бөлме температурасында, жарықтан қорғалған жерде кептірілді. Кепкен өсімдік шикізаттары дирмен көмегімен 4 мм диаметр болатындай етіп ұнтақталды.

Экстракті мен жеке заттардың сапалық құрамын анықтау үшін жұқа қабатты хроматография (ЖҚХ), қағазды хроматография (ҚХ), кері фазалы жұқа қабатты хроматография (КФЖҚХ), сондай-ақ 254 және 366 нм толқын ұзындықтарындағы ультра күлгін (УК) жарық пен әр түрлі органикалық еріткіштер жүйесі қолданылды.

#### *Қолданылған еріткіштер:*

##### 1) Жалпы еріткіштер

Өсімдік шикізаттарына экстракция жасау үшін этанол, метанол және су экстрагенттеі қолданылды.

##### 2) ЯМР спектроскопиясына арналған еріткіштер:

Хлороформ $CDCl_3-d$	Cambridge Isotope Laboratories, Inc.
Диметилсульфоксид $DMSO-d_6$	Cambridge Isotope Laboratories, Inc.
Метанол $CD_3OD-d_4$	Cambridge Isotope Laboratories, Inc.
Ацетон $C_3D_6O-d_6$	Cambridge Isotope Laboratories, Inc.

##### 3) ЖЭСХ (HPLC grade) арналған еріткіштер:

Метанол	Fisher Scientific
Ионсыздалған су (deionized water)	

#### *Хроматорграфия материалдары:*

##### 1) Қозғалмайтын фаза

Қалыпты фазалы ЖҚХ (Aluminum Silica gel 60 F <sub>254</sub> )	Merck KgaA
Кері фазалы ЖҚХ (Glass Silica gel 60 RP – 18 F <sub>254</sub> S)	Merck Millipore
Силикагель 60, 0,04 – 0,063 мм (230 – 400 меш)	Merck
Силикагель 60, 0,063 – 0,200 мм (70 – 230 меш)	Merck
Сефадекс LH-20, 0.25-0.1 мм	Merck, Fluka
ODS C – 18, 63-212 мкм	Wako Pure Chemical Industries, Japan

## 2) Айқындағыштар

10%  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  - ның 15%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  дағы ерітіндісі, 15%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ерітіндісі, 1%  $\text{AlCl}_3$ , 1%  $\text{FeCl}_3$ , *o*-толулдин, нингидрин реактиві, diazotтанған п-нитроанилин (ДзПНА) және 100 мл этанолдағы 65%-ды азот қышқылының 50 тамшы ерітіндісі.

## 2.2 Зерттеу әдістері

### 2.2.1 Хроматография

Хроматография алғаш рет өсімдіктерден түсті пигменттерді бөліп алу үшін жасалған. Демек, грек тілінен аударғанда хромато «түс» және графия «жазу» деген мағынаны білдіреді. Хроматография дегеніміз екі немесе одан да көп араласпайтын фазалар арасында қоспаларды бөлу әдісі. Кейбір араласпайтын фазаларға газ-сұйық, газ-қатты, сұйық-сұйық, сұйық-қатты, газ-сұйық-қатты және сұйық-сұйық-қатты қатарлылар жатады.

#### 2.2.1.1 Қолданылған еріткіштер жүйесі

Экстрактілер мен әр түрлі фракцияларды сапалық талдау және жеке қосылыстарды бөлу үшін қолданылған еріткіштер жүйесі.

Қағазды хроматография (ҚХ, Whatman S2, Германия) үшін қолданылған еріткіштер жүйесі:

I. Бутанол:сірке қышқылы:су (40:12.5:29)

II. 15% - ды сірке қышқылы

Жұқа қабатты хроматография (ЖҚХ) үшін қолданылған еріткіштер жүйесі:

III. н-Гексан:этилацетат 9:1 → 1:9

IV. Дихлорметан:этилацетат 9.5:0.5, 9:1 → 1:9,

V. н-Гексан:этилацетат:ацетон 8:1:1

VI. дихлорметан:этилацетат:сірке қышқылы 4:5,5:0,5

VII. Дихлорметан:метанол 9.7:0.3, 9.5:0.5, 9:1

VIII. Этилацетат:метанол 9:1 → 1:9

ЖҚХ RP-18:

IX. Су:метанол 2:3

Компоненттердің қозғалғыштығын анықтау үшін ЖҚХ пластинкаларын 254 және 366 нм толқын ұзындығындағы УК жарық астында қарап, ары қарай 10%  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  - ның 15%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  дағы ерітіндісі және 15%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ерітіндісімен өңдеп, 100-105 °C та қыздырады [114].

#### 2.2.1.2 Жұқа қабатты хроматография (ЖҚХ)

ЖҚХ - қоспаны оның химиялық құрамы бойынша бөлу, маңызды қосылыстарды оқшаулау және жеке заттардың тазалығын бағалау үшін қолданылатын өте тиімді әдіс болып табылады.

*Petrosimonia triandra*, *Petrosimonia glaucescens*, *Petrosimonia brachiata* және *Petrosimonia sibirica* өсімдіктерінен алынған сығындыларды сапалық



талдау мақсатында жұқа қабатты хроматография үшін еріткіштер жүйесін дамыту үрдісі:

1) Табиғы сығындының немесе фракциялардың ерітіндісін қайнау температурасы төмен органикалық еріткіштерде (метанол, н-гексан, дихлорметан, этилацетат және бутанол) 10 мг/мл концентрацияда дайындалды.

2) Дайындалған ерітінділер (2–5 мкл) әртүрлі TLC пластиналарына (2×10 см) тамызылды және дақтар толығымен кептірілді.

3) Әрбір ЖҚХ тақтасын әзірлеу үшін әртүрлі жылжымалы фазалар пайдаланылды.

4) Еріткіштер жүйесінен кейін пластиналар ультракүлгін жарықтың астында бақыланды және сәйкес ЖҚХ реагенттерін бүрку арқылы түрлі-түсті дақтар пайда болды.

5) ЖҚХ пластиналары және еріткіштер жүйесі салыстырылып, пайда болған дақтардың түсі мен R<sub>f</sub> мәні бойынша қосылыстарды бөлу үшін еріткіштер жүйесі таңдалды.

### 2.2.1.3 Бағаналы хроматография

Өсімдік шикізатынан экстракциялау арқылы алынған шикі сығындыны стационарлы және жылжымалы фазаларда алдын-ала анықтап, алған еріткіштер жүйесін қолданып, бағаналы хроматографияда фракцияларға бөлу және жеке заттарды оқшаулау жұмыстары жүргізілді.

*Petrosimonia triandra*, *Petrosimonia glaucescens*, *Petrosimonia brachiata* және *Petrosimonia sibirica* өсімдіктерінен биологиялық белсенді заттарды алу барысында келесі жүйелер қолданылды:

1) Қалыпты фазалы силикагель хроматографиясы үшін жылжымалы фаза ретінде н-гексан:этилацетат (10:1 → 1:10) полярлы еріткіштің (этилацетат) көнцентрациясын арттыру арқылы жүргізілді. Кіші фракциялар және жеке қосылыстар полярлылығы бойынша бөлінді.

2) Қалыпты фазалы Sephadex LH-20 хроматографиясы үшін жылжымалы фаза ретінде дихлорметан:метанол (9:1 → 1:9) еріткіштер жүйесін қолдану арқылы жүргізілді. Жеке қосылыстар молекулалық салмағы бойынша бөлінді, яғни кіші молекулалы заттар бірінші бөлінеді.

3) Кері фазалы хроматография полярсыз стационарлы фаза (C-18) мен полярлы жылжымалы фазаларды су:метанол (4:6) қолдану арқылы жүргізілді.

4) Препараттық жоғары эффективті сұйықтық хроматографиясы (Recycling Preparative HPLC, LC-908, JAI, Жапония) үшін стационарлы фаза ретінде ODS-H80 (150×20 mm) мен жылжымалы фаза ретінде полярды еріткіштер (су:метанол – 65:35) көмегімен жүзеге асырылды. Бұл әдіс арқылы сығынды құрамындағы биологиялық белсенді заттарды (алкалоидтарды) тез әрі таза күйінде бөлуге мүмкіндік берілді.

5) Газ хроматография – масс спектроскопиясы (6890N/5973C Agilent, США) ЖКФ СО<sub>2</sub>- экстракция әдісі арқылы алынған кешеннің құрамын сапалық және сандық талдау мақсатында Combi-PAL (СТС Analytсics, Швейцария) автосамплерін қолдану арқылы жүргізілді. Талдауға 0.2 мкл үлгі алынды және

DB-35ms (Agilent, США) 30 метірлік капиллярлы бағана қолданылды, сондай-ақ капиллярдың диаметрі 0.25 мм және қалыңдығы 0.25 мкм болды. Инжектор температурасы 240 °С, тасымалдаушы газ жылдымадығы (гелий, >99.995%, Оренбург-Техгаз, Россия) 1мл/мин және жұмыс уақыты 46 минутты құрады.

#### 2.2.1.4 Жоғары критикалық флюиді CO<sub>2</sub>-экстракция

Жоғары критикалық флюиді экстрактор (Thar, АҚШ) органикалық еріткіштерді пайдаланбай *Petrosimonia* өсімдіктерінен биологиялық белсенді кешендердің липофильді бөлігінен арылу үшін қолданылды. Онда экстракциялауға тиімді ерітінді ретінде көміртегі диоксидінің жоғары критикалық жағдайы: 40 °С температурада, 180 және 200 bar қысымдарда жұмыс жүргізілді. Қосымша еріткіш ретінде этил спиртінің 80% ды сулы ерітіндісі қолданылды. Жүйеге берілген жалпы ағынның жылдамдығы 100 г/мин: CO<sub>2</sub> газы үшін 85 г/мин және 80% ды сулы этанол үшін 15 г/мин және 1.5-2 сағат бойы жүргізілді.

#### 2.2.2 Оқшауланған заттарды құрылымдық талдау

Бөлінген биологиялық белсенді заттардың құрылымы стандартты үлгілермен және заманауи спектрлік әдістермен: (1М: <sup>1</sup>H ЯМР – AVANCE NEO-400, AVANCE NEO-500 да 400, 500 MHz және <sup>13</sup>C ЯМР - AVANCE NEO-400, AVANCE NEO-500 да 100, 125 және 150 MHz; BB, DEPT, 2М: ЯМР <sup>1</sup>H -<sup>13</sup>C- HSQC, HMBC, <sup>1</sup>H -<sup>1</sup>H – COSY-45 °С, NOESY, сондай-ақ оптикалық айналуы (P-2000), УК- (Shimadzu UV-240, Жапония), ИҚ- (Bruker Vector 22, Жапония) спектроскопия мен EI-MS (JEOL 600H-1, Inlet: Direct Probe), FAB-MS (JEOL 600H-2, Inlet: Direct Probe), ESI-MS (Burker Compass Data Analysis 4.2), HR-EI-MS (JEOL 600H-2, Inlet: Direct Probe), балқу температурасы (Melting point Buchi M-560) көмегімен (H.E.J. Research Institute of Chemistry, International Center for Chemical and Biological Sciences, University of Karachi, Karachi-75270, Pakistan) дәлелденді.

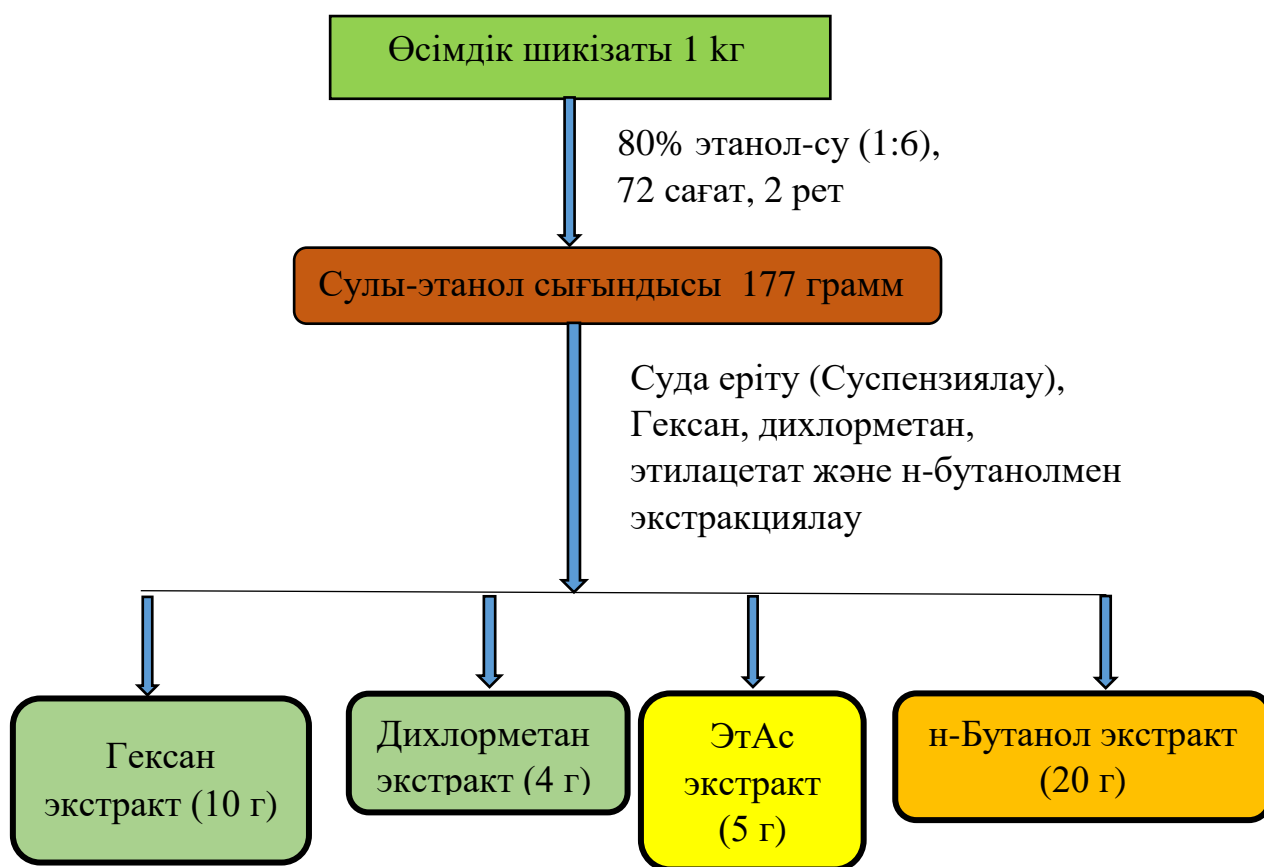
2.2.3 Өсімдік шикізаттарының шынайылығы мен биологиялық белсенді заттардың сандық мөлшерін анықтау

Қазақстан республикасы І Мемлекеттік Фармакопеясында жазылған әдістеме бойынша өсімдік шикізаттарының шынайылығы (ылғалдылық, күлділік және экстрактивті заттар мөлшері) және өсімдік құрамындағы биологиялық белсенді заттардың сандық мөлшері анықталды [115, 116]. Өсімдік құрамындағы амин және май қышқылдары газ-сұйықтық хроматография көмегімен сарапталды [117-119].

#### 2.2.4 Биологиялық белсенді заттарды экстракциялау және бөлу *Petrosimonia* өсімдіктері

Алдын ала кептіріліп, ұсақталған 1 кг өсімдік шикізаты жоғары критикалық флюиді CO<sub>2</sub> - экстракторда 180 bar қысым және 40 °С температурада өңделген өсімдік шикізатына 80%-ды этанолмен 1:6 қатынаста

бөлме температурасында 3 тәулікке класикалық мацерация әдісі бойынша экстракция жасалынды (екі рет). Алынған сулы-этанол сығындысы 40 – 45 °С та роторлы буландырғыш көмегімен қоюлатылды және тартқыш шкаф астында бір апта бойы кептірілді. Кептірілген 177 грамм құрғақ сығындыға 500 мл дистилденген су қосу арқылы суспензия дайындалды. Суспензияға полиарлығы бойынша гексан, дихлорметан, этилацетат және бутанол қосу арқылы дәекті түрде сұйық-сұйық экстракциясы жүргізілді және барлық экстрактілер роторлы буландырғышта 50 °С тан аспайтын температурада еріткіштен ажыратылды. Нәтижесінде 5 түрлі: гександы (10 г), дихлорметанды (4 г), этилацетатты (5 г), бутанолды (20 г) және сулы қалдық (147 г) фракциялары алынды (20 – сурет).



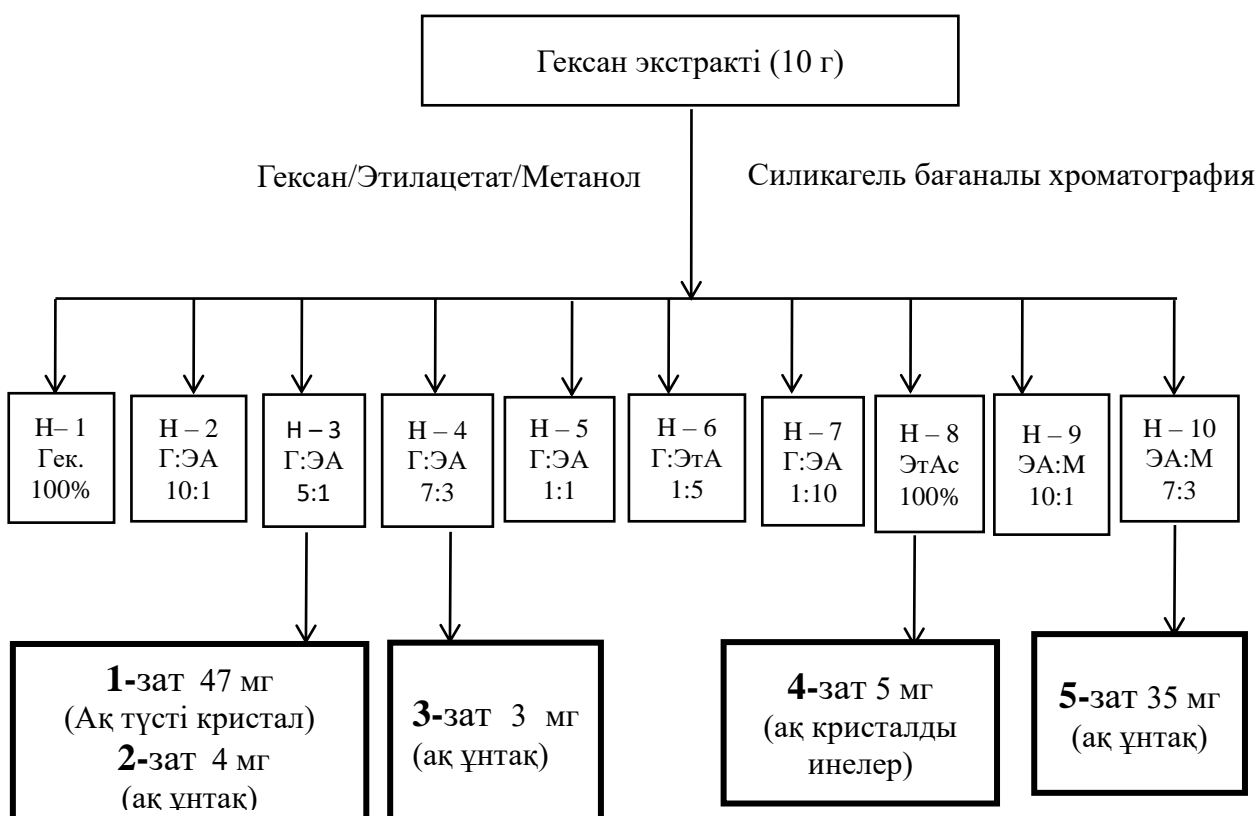
22 – Сурет. Өсімдік шикізатын экстракциялау жолы

Алынған фракциялардың белсенділігін тексеру үшін биоскрингке тапсырылды. Скрининг нәтижесінде белсенділік көрсеткен фракцияларды ары қарай негізге алынды. Этанолды сығындының сапалық құрамын сараптау мақсатында бір және екі жүйелі қағазды хроматография жасалса, сұйық-сұйық экстракциясы нәтижесінде алынған фракциялардың (гексан, дихлорметан, этилацетат және бутанол) сапалық құрамы газды хроматография – масс спектроскопия және ЖҚХ көмегімен жүргізілді.

### 2.2.4.1 Гексан экстрактісінен биологиялық белсенді заттарды бөлу

Гексан экстрактісіне ЖҚЖ да (еріткіштер жүйесі III) сапалық талдау жасалды, айқындағыш ретінде  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  - ның 15%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  дағы ерітіндісі қолданылды. Зерттеу нәтижесінде липофильді заттар стероидтар мен терпендердің бары анықталды.

10 г гексан экстрактісін фракцияларға бөлу және жеке заттарды оқшаулау мақсатында силикагель бағаналы хроматографиясы қолданылды. Бағана алдымен 100% гексан еріткішімен жуылып, әрі қарай гексан:этилацетат 10:1 → 1:10, 100% этилацетат, этилацетат:метанол 10:1 → 7:3 қатынастары бойынша полярлы еріткіш (этилацетат, метанол) концентрациясын арттыра отырып, хроматография жасалды. ЖҚЖ да  $R_f$  мәндері мен дақ түстері бір-біріне ұқсайтын фракцияларды біріктіріп, нәтижесінде 10 (Н1- Н10) фракция алынды (14 – сурет). Әрбір фракция жұмсақ жағдайда роторлы буландырғыш көмегімен қоюлатылды. Өте полярсыз Н1 (0.3 г) фракциясының сапалық және сандық құрамы ГХ-МАСС спектроскопиясында талданды. Ал Н3 (1.8 г) фракциясын әрі қарай СГ бағаналы хроматографиясында тазарту арқылы **1-** (47 мг) және **2-** (4 мг) заттары алынды. Н4, Н8 және Н10 фракциялары таза зат күйінде бөлініп, сәйкесінше **3-** (3 мг), **4-** (5 мг) және **5-** (35 мг) заттары болды.



23 – Сурет. Гексан сығындысынан биологиялық белсенді заттарды бөлу жолы

**1-зат – Стигмастерол**,  $C_{29}H_{48}O$  – ақ түсті кристал, балқу температурасы 161-163 °С, EI-MS,  $m/z$  412.2 [M]<sup>+</sup>.

**2-зат - н-Гексадеканол**,  $C_{16}H_{34}O$  - ақ ұнтақ, балқу температурасы 74.7-76.8 °С, EI-MS,  $m/z$  242.2 [M]<sup>+</sup>.

**3-зат – 4-гидроксифенетил тетрадекан қышқылы**,  $C_{22}H_{36}O$  – ақ ұнтақ, балқу температурасы 74.7-76.8 °С, EI-MS,  $m/z$  348.2 [M]<sup>+</sup>.

**4-зат – Эргостерол**,  $C_{28}H_{44}O$  – ақ кристалды инелер, балқу температурасы 163-165 °С, EI-MS,  $m/z$  396 [M]<sup>+</sup>.

**5-зат – Стигмастерол 3-О-β-D-глюкопиранозид**,  $C_{35}H_{58}O_6$  – ақ ұнтақ, балқу температурасы 288-289 °С, EI-MS,  $m/z$  575 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 2.2.4.2 Дихлорметан экстрактісінен биологиялық белсенді заттарды бөлу

Дихлорметан экстрактісіне ЖҚХ да (еріткіштер жүйесі IV) сапалық талдау жасалды және айқындағыш ретінде  $Se(SO_4)_2$  - ның 15%  $H_2SO_4$ -дағы ерітіндісі қолданылды. Хроматография нәтижесінде экстракт құрамында стероидты қосылыстар мен флавоноид агликондары бар екені белгілі болды.

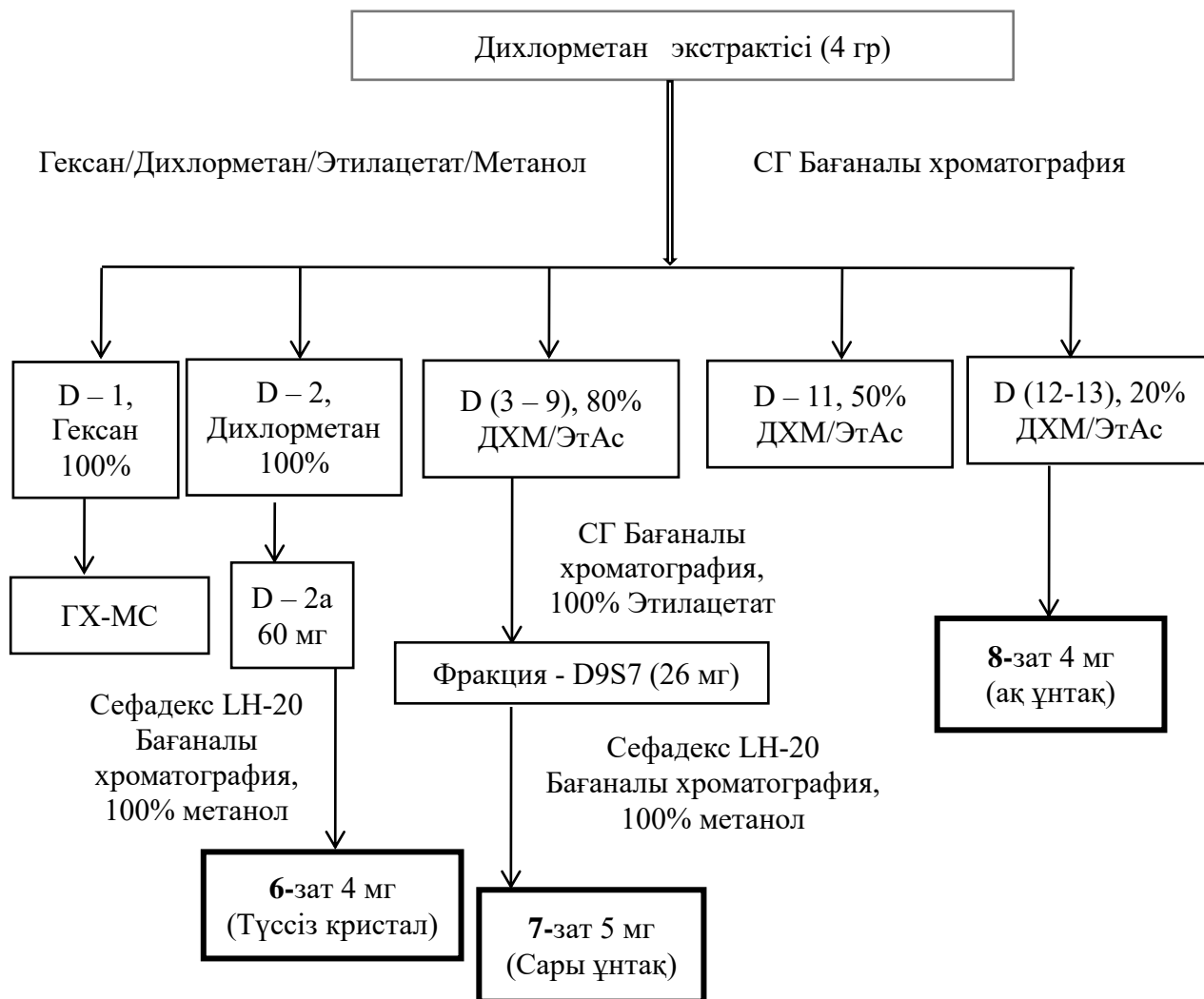
Кептіріліп, ұнтақталған 4 грамм дихлорметан экстрактісі СГ-60 бағаналы хроматографиясында гексан/дихлорметан/этилацетат/метанол еріткіштер жүйесін пайдалану арқылы хроматографияланды. Жұмыс барысында 100% гексаннан бастап жуылып, полярлықты арттыру арқылы 100% метанол еріткішімен жуылды. Хроматография нәтижесінде 13 (D1-D13) фракция алынды (15-сурет).

Фракция D1-D2 стероидты қосылыстардың кешені 64 мг болды және әрі қарай тазарту және бөлу жұмыстары үшін сефадекс LH-20 бағанасында 100% метанол еріткішімен хроматографияланды. Хроматографиялау нәтижесінде **6-зат** (4 мг) бөлінді. Фракция D9 440 мг әрі қарай тазарту мақсатында СГ-60 бағаналы хроматографиясында 100% гексан → 100 % этилацетат еріткіштер жүйесінде этилацетат концентрациясын арттыра отырып, жуылды. Хроматографиялау нәтижесінде 9 кіші фракция (D9S1-S9) алынды және D9S7 фракциясын (26 мг) әрі қарай тазарту үшін сефадекс LH-20 бағанасында 100% метанолмен жуу нәтижесінде **7-зат** (5 мг) бөлінді. Кіші фракция D13 таза күйінде **8-зат** (4 мг) бөлінді.

**6-зат - β-ситостерол**,  $C_{29}H_{50}O$ , түссіз кристал, балқу температурасы 136–140°С, EI-MS,  $m/z$  414.3.

**7-зат – Изорамнетин (3,5,7,4'-тетрагидрокси-3'-метоксифлавоны)**,  $C_{16}H_{12}O_7$ , сары ұнтақ, балқу температурасы 303–305°С, EI-MS,  $m/z$ .316 [M]<sup>+</sup>.

**8-зат - β-ситостерол-3-О-β-D-глюкопиранозид**,  $C_{35}H_{60}O_6$ , ақ ұнтақ, FAB-MS,  $m/z$  577.1.



24 – Сурет. Дихлорметан сығындысынан биологиялық балсенді заттарды бөлу жолы

#### 2.2.4.3 Этилацетат экстрактісінен биологиялық белсенді заттарды бөлу

Этилацетат фракциясына ЖҚХ көмегімен (еріткіштер жүйесі V) сапалық талдау жүргізілді, сондай-ақ айқындағыш реагент  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  - ның 15%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  дағы ерітіндісі себіліп, УК жарықта (254 және 366 нм) пайда болған дақтардың түсін талдау нәтижесінде экстракт құрамында фенол қышқылдары, флавоноид агликондары, флавоноид гликозидтері және кейбір алкалоидты қосылыстар бар екені анықталды.

Кептіріліп ұнтақталған 5 грамм этилацетат экстрактісін СГ-60 бағаналы хроматографиясында 100% гексан → гексан-этилацетат (әр түрлі қатынаста) → 100% этилацетат → этилацетат-метанол (әр түрлі қатынаста) → 100% метанол полярлықты арттыра отырып хроматографиялау жасалынып, нәтижесінде 11 фракция (E1-E10) алынды.



Фракция E2 ден **9-зат** (10 мг) және кіші фракция E2S1 бөлінді, E2S1 фракциясын әрі қарай тазарту үшін сефадекс LH-20 бағаналы хроматографиясында 100% метанол еріткішін қолдана отырып жүргізілді. Хроматография нәтижесінде **10-** (12 мг), **11-** (5 мг), **12-** (6 мг) және **13-** (10 мг) заттары, E3 фракциясы таза күйдегі **14-зат** (7 мг) бөлінді.

Фракция E6 (260 мг) әрі қарай тазарту мақсатында ЖЭСХ (Recycling Preparative HPLC, LC-908, JAI, Жапония) да C-18 адсорбенті қолданылған ODS-H80 бағанасында хроматографияланды. Еріткіштер жүйесі үшін су:метанол - 65:35 қолданылды, детекторлар UV=0.2 және RI=20, ағын жылдамдығы 3мл /мин болды. Талдау нәтижесінде **15-** (35 мг), **16-** (7 мг), **17** (20 мг) және **18-** (6 мг) заттары окшауланды.

Фракция E8 ден таза күйінде **19-** (90 мг), **20-** (4 мг), **21-** (5 мг) заттары және E8S1 кіші фракциясы бөлінді. E8S1 фракциясын тазалауға сефадекс LH-20 бағанасында 100% метанол еріткішімен хроматография жасалып, нәтижесінде **22-зат** (7 мг) бөлінді.

**9-зат** – **Ванилин қышқылы**, C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>, балқу температурасы 210–212 °С. EI-MS, m/z 168 [M]<sup>+</sup>.

**10-зат** – **Изованилин қышқылы**, C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>, балқу температурасы 208 –210 °С. EI-MS, m/z 168 [M]<sup>+</sup>. ЯМР

**11-зат** – **3-О-Метилкверцетин (5,7,3',4'-тетрагидрокси-3-метокси флаворон)**, C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>, балқу температурасы 314–315°С. EI-MS, m/z 316 [M]<sup>+</sup>.

**12-зат** – **Хризоеориол (5,7,4'-тригидрокси-3'-метоксифлаворон)**, C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>, балқу температурасы 273–275°С. EI-MS, m/z 300 [M]<sup>+</sup>.

**13-зат** – **Кверцетин (3,5,7,3',4'-пентагидрооксифлаворон)**, C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>, балқу температурасы 314–315°С. EI-MS, m/z 302 [M]<sup>+</sup>.

**14-зат** – **Тамариксетин (3,5,7,3'-тетрагидрокси-4'-метоксифлаворон)**, C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>, балқу температурасы 250–252°С. Молекулалық массасы EI-MS, m/z 316 [M]<sup>+</sup>.

**15-зат** – **N-[(2S)-2-(4-гидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-диметоксифенил)-(2E)-проп-2-енамид**, C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>5</sub>, ақ түсті аморфты ұнтақ, балқу температурасы 175–177 °С,  $[\alpha]_D^{21} = -42^\circ$  (с=0.1 мг/мл, MeOH), HR-EI-MS, m/z 343.1404 [M]<sup>+</sup>. ЯМР <sup>1</sup>H және <sup>13</sup>C нәтижелері 20 – кестеде көрсетілген.

**16-зат** – **N-цис-Ферулоиллоктопамин**, C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub>, ақ түсті аморфты ұнтақ, балқу температурасы 155–159 °С,  $[\alpha]_D^{21} = -25^\circ$  (с=0.1 мг/мл, MeOH), позитив FAB-MS, m/z 330.1 [M+H]<sup>+</sup>.

**17-зат** – **N-транс-Ферулоиллоктопамин**, C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub>, ақ түсті аморфты ұнтақ, балқу температурасы 164–166°С,  $[\alpha]_D^{21} = -35^\circ$  (с=0.1 мг/мл, MeOH), позитив FAB-MS, m/z 330.1 [M+H]<sup>+</sup>.

**18-зат** – **N-[2-(3,4-дигидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-диметоксифенил)проп-2-енамид**, C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>6</sub>, ақ түсті аморфты ұнтақ, балқу температурасы 225–227 °С,  $[\alpha]_D^{21} = -23^\circ$  (с=0.1 мг/мл, MeOH), EI-MS, m/z 359 [M]<sup>+</sup>. ЯМР <sup>1</sup>H және <sup>13</sup>C нәтижелері 20 – кестеде көрсетілген.

**19-зат** – **Изорамнетиннің 3-О-β-D-глюкопиранозиді**,  $C_{22}H_{22}O_{12}$ , балқу температурасы 243–245 °С, EI-MS,  $m/z$  479  $[M+H]^+$ .

**20-зат** – **Тамариксетиннің 3-О-β-D-галактопиранозиді**,  $C_{22}H_{22}O_{12}$ , балқу температурасы 218–220 °С, EI-MS,  $m/z$  479  $[M+H]^+$ .

**21-зат** – **Нарциссин (изорамнетиннің 3-О-рутинозиді)**,  $C_{28}H_{32}O_{16}$ , балқу температурасы 186–184 °С, FAB-MS,  $m/z$  625  $[M + H]^+$ .

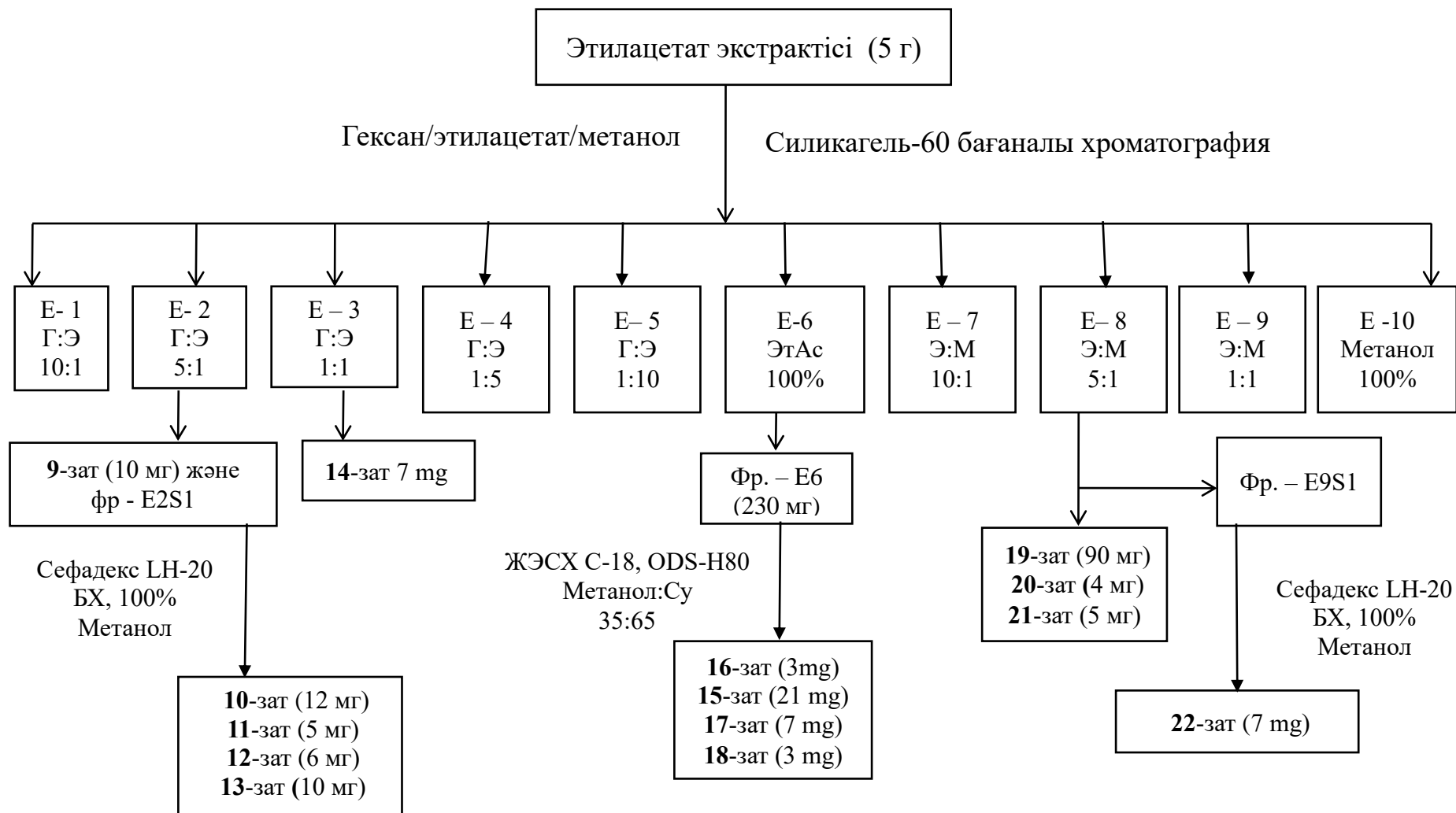
**22-зат** – **Аллантоин**,  $C_4H_6N_4O_3$ , түссіз ине тәрізді кристал, балқу температурасы 231–233 °С,  $[\alpha]_D^{21} = 1.33^\circ$  ( $c=0.17$  мг/мл,  $H_2O$ ), EI-MS,  $m/z$  158

#### 2.2.4.4 Бутанол экстрактісінен биологиялық белсенді заттарды бөлу

Кептіріліп ұнтақталған 1.0 кг өсімдік шикізатына мацерация әдісі арқылы 70%-ды этанол-су еріткішімен 72 сағат, бөлме температурасында екі рет экстракция жасалды. Алынған этанолды сығынды роторлы буландырғышта қоюлатылып кептірілді және 130 грамм қара-қоңыр түсі құрғақ сығынды алынды. Құрғақ сығындыға су/этанол (9:1) қоспасымен суспензия жасалынып, органикалық еріткіштер гексан, хлороформ, этилацетат және н-бутанол көмегімен сұйық-сұйық экстракциясы жасалынды. Алынған әр экстракті вакуумды жағдайда 45 °С температурада еріткіштерінен ажыратылып, ҚХ және ЖҚХ көмегімен сапалық құрамына талдау жүргізілді. 28 грамм этилацетат экстрактісі силикагел бағаналы хроматографиясы арқылы хлороформ/метанол еріткіштерінің әр түрлі қатынасы арқылы (9:1, 4:1, 1:1, ) хроматографияланды. Хлороформ/метанол (4:1) хроматография нәтижесінде алынған фракцияға (275 мг) Sephadex LH-20 адсорбентін қолданып, бағананы 100%-ды метанолмен жуғанда **23-зат** (17 мг) және **24-зат** (9 мг) бөлінді.

**23-зат** - **Кверцетиннің 3-О-β-D-глюкопиранозиді**,  $C_{21}H_{20}O_{12}$ , сары кристал, балқу температурасы 230–232 °С, ESI-MS,  $m/z$  464  $[M]^+$ .

**24-зат** - **Кемпферолдың 3-О-β-D-ксилопиранозиді**,  $C_{20}H_{18}O_{10}$ , сары түсті ұнтақ, балқу температурасы 224–225 °С, ESI-MS,  $m/z$  418  $[M]^+$ .



25 – Сурет. Этилацетат экстрактісінен биологиялық белсенді заттарды бөлу жолы

### 2.3 Бактерияға және қабынуға қарсы биологиялық белсенді кешен алу мен биоскрининг жасау үрдісі

500 г *Petrosimonia triandra* өсімдік шикізаты (1-4 мм бөлшектерге дейін ұнтақталған) жоғары критикалық флюидті CO<sub>2</sub> – экстракторында 180 бар қысым, 40 °С температура, 2 сағат бойы өңделген. Өңделген өсімдік шикізатының (шрот) қалдығына 80% сулы-этил спиртімен 1:6 қатынаста, 6 сағат бойы бөлме температурасында, 2 рет экстракциялап, гексан, дихлорметан, этилацетат және бутанол еріткіштерімен өңделіп, алынған сығындылар 30-50 °С аралығында айналмалы буландырғышта қоюлатылған. Сығындылар мұздатылып кептіріліп, соңғы өнімдер алынады.

7 – Кесте. Температураның өсімдік қалдығын (шрот) экстракциялауға және соңғы өнімді алуға әсері

Үлгі №	Температура	Шикізат:еріткіш қатынасы	Экстракция уақыты	Қорытынды
1	45-50	1:6	6	Нәтижеге толығымен қол жеткізілді
2	60	1:6	6	Нәтижеге 75% қол жеткізілді
3	80	1:6	6	Негізгі өнім шайыр тәрізді алынды

8 – Кесте. Шикізат:еріткіш қатынасының соңғы өнімді алуға әсері

Үлгі №	Шикізат:еріткіш қатынасы	Температура	Экстракция уақыты	Қорытынды
1	1:6	45-50	6	Нәтижеге толығымен қол жеткізілді
2	1:8	45-50	6	Нәтижеге 80% қол жеткізілді
3	1:10	45-50	6	Еріткіштің көп мөлшерін тұтыну

9 – Кесте. Экстракция уақытының соңғы өнімді алуға әсері

Үлгі №	Экстракция уақыты	Температура	Шикізат:еріткіш қатынасы	Қорытынды
1	6	45-50	1:6	Нәтижеге толығымен қол жеткізілді
2	4	45-50	1:6	Негізгі өнімнің толық алынбауына жол берілді
3	8	45-50	1:6	Негізгі өніммен қатар кейбір қосалқы өнімдер қалыптасты

### 2.3.1 Бактерияға қарсы белсенділікті талдау үрдісі

*Petrosimonia triandra* өсімдігінен алынған сығындылардың бактерияға қарсы белсенділігі *in vitro* Аламар көк (*Microplate Alamar Blue Assay*) бояуын пайдаланып микропластинада бағаланды. Белсенділікті тексеру үшін келесі бактериялық штамдар қолданылды:

- *Escherichia coli* (ATCC 25922)
- *Bacillus subtilis* (ATCC 23857)
- *Staphylococcus aureus* (NCTC 6571)
- *Pseudomonas aeruginosa* (NCTC 10662)
- *Salmonella typhi* (ATCC 14028)

Микроағзаларды өсіру үшін Мюллер-Хинтон ортасы қолданылды. МакФарлендтың 0.5 индексінде инокуляциялардың лайлануы түзетілді. Зерттелетін үлгілердің бастапқы ерітінділері 1:1 қатынасында метил спиртінде дайындалды.

96 шұңқырлы пластинаның әрқайсының көлемі 200 мкл деңгейінде зерттелетін үлгілермен толтырылды. Пластинканың әрбір ұңғымасына 5×10<sup>6</sup> ұяшықты қосқаннан кейін бақылау стандарты мен сынақ үлгісі инкубацияланды. Әрбір ұңғымаға Alamar Blue қосылды және пластина 2-3 сағатқа 80 айн/мин шайқау инкубаторына орналастырылды. Аламар көк түсінің көгілдірден қызғылт түске өзгеруі бактерия штамдарының өсуін көрсетті. Абсорбция ELISA оқу құралының көмегімен 570 және 600 нм-де жазылды (P415384, SPECTRA Max, Molecular Devices, USA) [120-122].

### 2.3.2 Қабынуға қарсы белсенділікті талдау үрдісі

Қабыну тірі тіннің зақымдануынан туындайды. Қабынудың төрт негізгі көрсеткіші болуы мүмкін, яғни ауырсыну, қызару, қызу және ісіну. Жарақат алған кезде адам денесінің кез келген бөлігінде артериолдар кеңейеді. Қан айналымының жоғарылауы зақымдалған тіндерде қызаруды тудырады [123].

#### 2.3.2.1 Мембрананы тұрақтандыру әдісі

*Petrosimonia* өсімдігінен алынған сығындылардың қабынуға қарсы белсенділігі *in vitro* жағдайда мембрананы тұрақтандыру әдісі бойынша жүргізілді. Қабыну кезінде лизосомалық мембрананың лизисі орын алуы мүмкін, ол олардың ферментін босатып, әртүрлі бұзылуларды тудыратын компоненттер болып табылады. Қызыл қан жасушаларының лизисі – эритроциттердің мембраналары зиянды заттардың әсерінен гемоглобиннің гемолизі және тотығуы болды. Қызыл қан жасушасын зақымдайтын заттарға гипотоникалық орта, қызу, метил салицилат және фенилгидразин жатады. Адамның қызыл қан жасушаларының мембраналары лизосомалық мембранаға ұқсас болғандықтан, гипотонияның тежелуі және эритроциттердің лизисі жылу әсерінен мембрананың қабынуға қарсы белсенділік механизмінің өлшемі ретінде қабылданады. Гипотониялық ерітінді қызыл қан жасушаларында сұйықтықтың шамадан тыс

жиналуын тудырады, бұл оның мембранасының жарылуына әкеледі. Ақырында, қызыл қан жасушаларының гемолизі орын алады. Зақымдалған қызыл қан жасуша мембранасы жасушаны қайталама зақымдануға бейім ететін бос радикалдардың әсерінен липидтердің асқын тотығуы арқылы бактериялық ферменттер мен протеазалар бар белсендірілген нейтрофилдердің лизосомалары пайда болады. Лизосомалық құрамдас бөліктердің ағуы одан әрі қабынған және зақымданған тіндерді тудырады. Сондықтан мембрананың тұрақтануы лизосомалардың қабыну реакциясын бақылау үшін өте маңызды [124].

Сығындылардың мембраналық тұрақтандырғыш белсенділігін индукцияланған гипотоникалық ерітінді геомолизі арқылы адам қанының эритроциттерін қолдана отырып жүзеге асырылды [125]. Эритроциттердің мембранасы лизосомаға ұқсас болады, сондықтан сығындылардың эритроциттерді тұрақтандыру әсері лизосомалық мембрананы тұрақтандыруға қолданылады. Ең алдымен жоғарыда аталған әдістер көмегімен эритроциттер дайындалды [126, 127].

### 2.3.2.2 Индукцияланған гипотоникалық ерітінді геомолизі

Бұл тәжірибе гипотоникалық ерітіндімен жүргізіледі. Бірнеше түрлі агент гипотоникалық ерітінді ретінде гипотүзды ерітінді (10 мМ натрий фосфат буферіндегі 50 мМ NaCl – рН=7,4) және дистилденген су пайдаланылады. Реакциялық қоспаны өсімдік сығындысы 50 мкг/мл және гипотоникалық ерітіндісі бар эритроцитті суспензия құрады. Бақылау тәжірибесіне *ибуфен* 25 мкг/мл стандартты дәрісі қолданылды. Бұл қоспа 37 °С температурада 30 минут инкубацияланды және 3000 айн/мин 20 минут центрифугаланды. Соңында, үстіңгі ерітіндідегі гемоглобин мөлшері спектрофотометрде 560 нм да анықталды. Қызыл қан жасушалары мембранасының тұрақтану пайызы келесі теңдеу арқылы есептеледі:

$$\% = \frac{100 - \text{Препаратпен өңделген үлгінің оптикалық тығыздығы}}{\text{Бақылау ерітіндісінің оптикалық тығыздығы}} \times 100$$

## 2.4 Статистикалық талдау

GraphPad Prism (10.0.3.275 версиясы) бағдарламалық құралын пайдалану арқылы параллель тәжірибелердің орташа мәндері мен стандартты орташа қателік есептелініп, екі жақты Стюденттің t-тесті мен дисперсияның бір жақты талдау маңыздылығы (ANOVA) бойынша салыстырылды. Қабылданған статистикалық маңыздылық  $p > 0,05$ .



### 3 ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ

#### 3.1 *Petrosimonia* өсімдігінің кейбір түрлеріндегі негізгі биологиялық белсенді заттар топтарының сапалық және сандық құрамын сараптау

Зерттеу нысандары – Алабұталар (*Chenopodiaceae*) тұқымдасына жататын *Petrosimonia triandra*, *Petrosimonia glaucescens*, *Petrosimonia brachiata* және *Petrosimonia sibirica* өсімдіктерінің жер үсті бөліктері. Зерттелетін өсімдіктер Алматы обылысы Еңбекшіқазақ және Бақанас аудандарының сортаң жерлерінен 2018 – 2019 жылдары қыркүйек айында жиналған.

Қағазды хроматография (ҚХ) және жұқа қабатты хроматография (ЖҚХ) әдістеріне әр түрлі еріткіштер жүйесін пайдалана отырып, арнайы айқындағыштар көмегімен өсімдік шикізаттарының құрамында биологиялық белсенді заттардың (ББЗ) негізгі кластары сапониндер, флавоноидтар, тері илегіш заттар, алкалоидтар, фенол қышқылдары және стероидты қосылыстар бар екені анықталды.

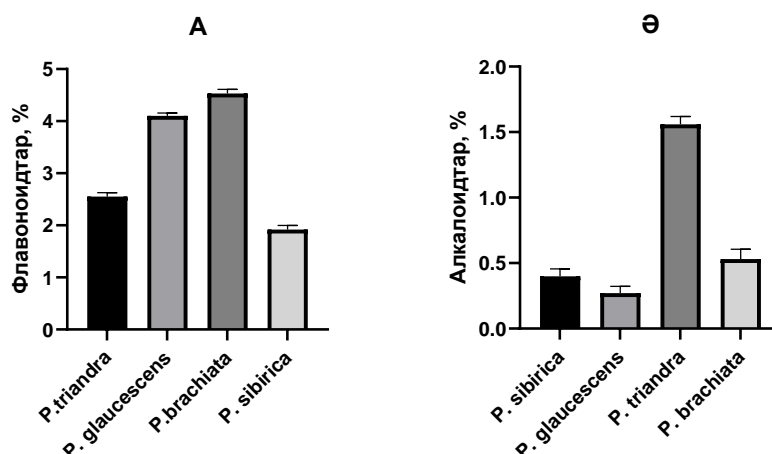
Қазақстан республикасы мемлекеттік Фармакопиясының I басылым әдістері бойынша ББЗ-ға сапалық және сандық сараптау жүргізіліп, өсімдік шикізаттарының шынайылығы анықталды, зерттеу нәтижелеі 10 – кестеде көрсетілген [128].

10 – Кесте. *P. Sibirica*, *P. Glaucescens*, *P. triandra* және *P. brachiata* өсімдіктеріндегі негізгі ББЗ топтарының сандық мөлшері мен шынайылығы.

Өсімдік аттары	<i>P. triandra</i>	<i>P. glaucescens</i>	<i>P. brachiata</i>	<i>P. sibirica</i>
Өсімдік шикізаттарының сапалық көрсеткіштері, (%)±SEM				
Ылғалдылық	8.09±0.03	5.90±0.04	10.22±0.04	7.81±0.03
Күлділік	17.52±0.07	24.50±0.06	20.45±0.15	24.71±0.06
Экстрактивті заттар (80%-ды этанол-су)	42.70±0.04	46.10±0.02	46.90±0.06	52.90±0.04
Негізгі биологиялық белсенді заттар тобының сандық мөлшері, (%)±SEM				
Сапониндер	4.53±0.03	<b>8.6±0.03</b>	1.92±0.03	0.6±0.02
Флавоноидтар	2.55±0.04	4.1±0.03	<b>4.53±0.04</b>	1.92±0.04
Тері илегіш заттар	<b>1.75±0.03</b>	1.1±0.02	0.1±0.01	0.1±0.01
Алкалоидтар	<b>1.56±0.04</b>	0.27±0.03	0.53±0.04	0.4±0.03
Полисахаридтер	1.78±0.01	1.4±0.01	<b>5.14±0.02</b>	4.2±0.04
Бос органикалық қышқылдар	0.52±0.03	0.6±0.04	<b>5.51±0.04</b>	3.5±0.04
Кумариндер	0.18±0.02	0.9±0.03	0.13±0.03	0.3±0.02

10 – кестедегі мәліметтер бойынша, зерттеліп отырған өсімдік шикізаттарының ылғалдылық мәндері (шикізатты кептіргеннен кейінгі жасушада қалған коллоидты сұйықтық мөлшері) фармакопоялық талап бойынша 10-12% мәндер шегінен аспады. Өсімдік шикізаттарының шынайылық

көрсеткіштері фармакопоялық үлгілерге қойылатын талаптарға сай екендігін аңғарамыз.

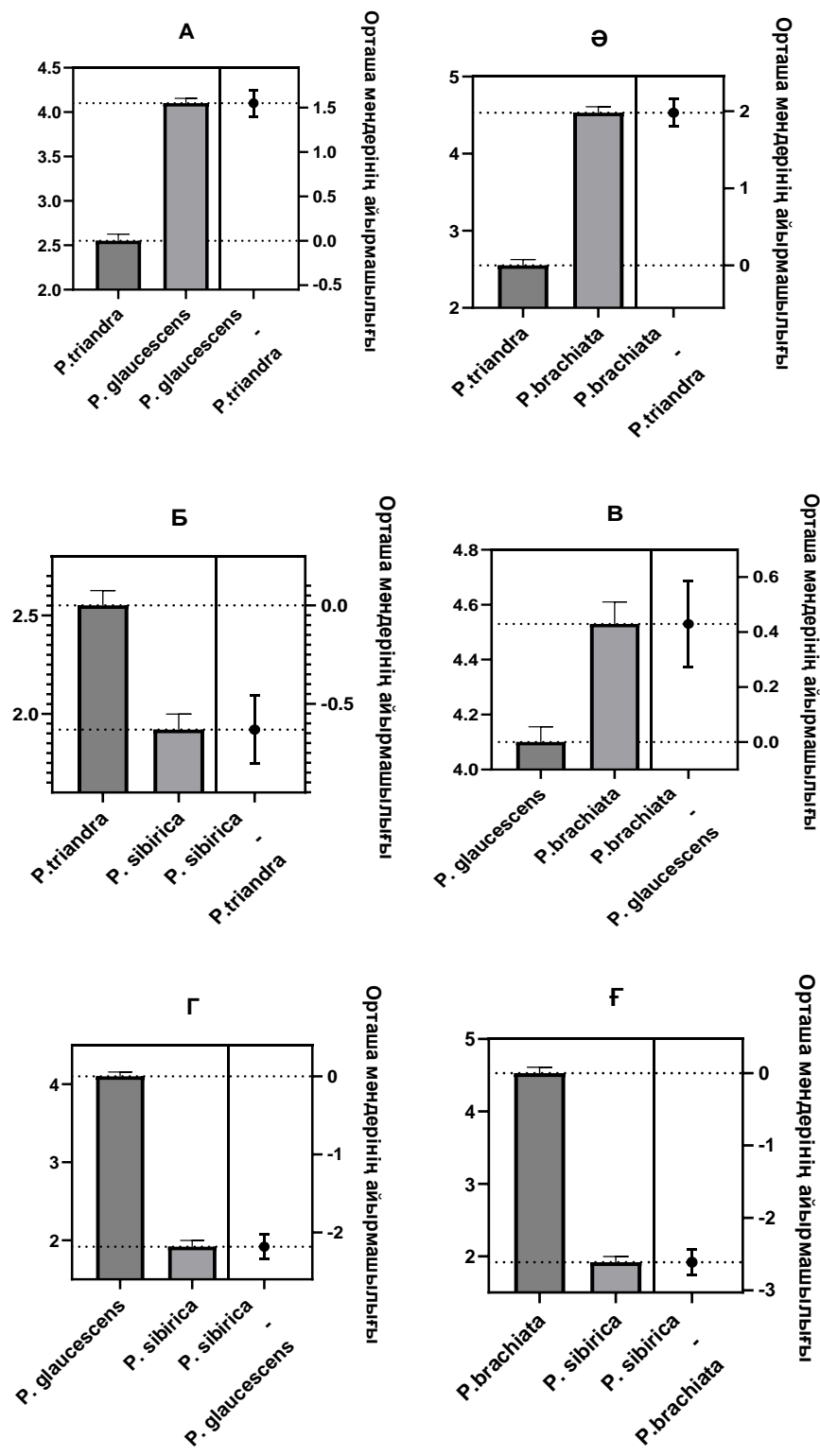


26 – Сурет. Өсімдік шикізаттарындағы флавоноидтар (А) мен алкалоидтардың (Ә) сандық мөлшерінің гистограммасы. Барлық мәліметтер төрт өсімдік бойынша мәндерінің стандартты ауытқуларымен ( $\pm$ ) ұсынылған. Статистикалық мәліметтердің айырмашылығы келесі түрде берілді: \*\*\*\* -  $p < 0.0001$ , ns - статистикалық маңызды айырмашылық жоқ,  $p < 0.05$

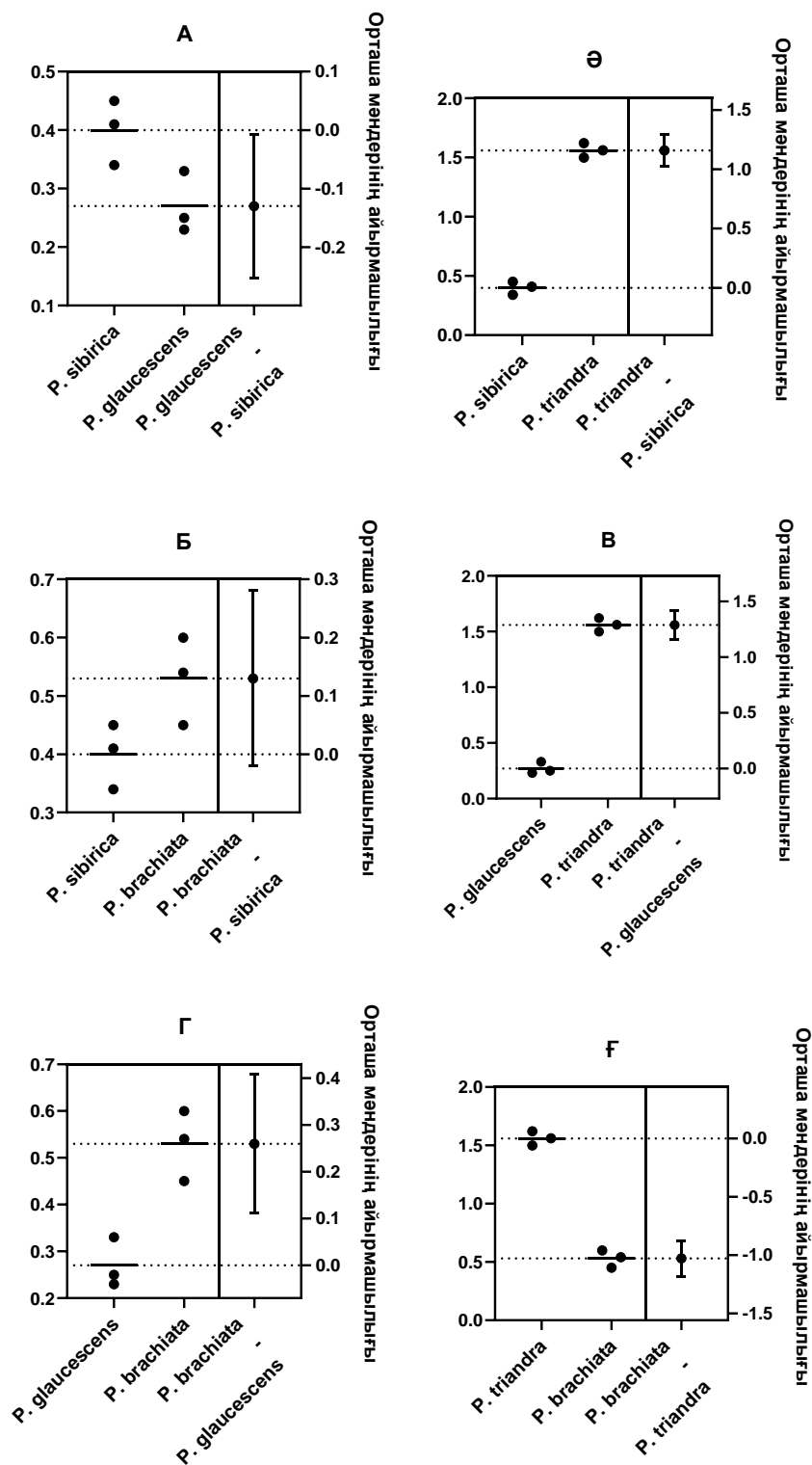
10 – кестедегі мәліметтерді салыстырсақ, *P. Sibirica*, *P. glaucescens*, *P. triandra* және *P. brachiata* өсімдіктерінің ылғалдылықтары  $5.90 \pm 0.04$  –  $10.22 \pm 0.04$  % шамасында, 80%-ды сулы-спирттегі экстрактивті заттардың сандық көрсеткіштері  $42.70 \pm 0.04$  –  $52.90 \pm 0.04$  % арасында екені белгілі болды. Зерттелетін өсімдік шикізаттарының құрамындағы биологиялық белсенді заттардың пайыздық мөлшерілері арасында үлкен айырмашылық жоқ. Соның ішінде *P. Sibirica* өсімдігіндегі экстрактивті заттардың мөлшері басқа түрлермен салыстырғанда көбірек екені белгілі болды.

Шикізаттар құрамындағы ББЗ-ға сандық және сапалық талдау жүргізу нәтижесінде *P. glaucescens* өсімдік шикізатының құрамында сапониндер ( $8.6\% \pm 0.03$ ), флавоноидтар ( $4.1\% \pm 0.03$ ) және кумариндердің мөлшері ( $0.9\% \pm 0.03$ ) басқа түрлермен салыстырғанда көп екені анықталды. Алайда, *P. brachiata* өсімдігінің құрамында сапониндер ( $4.53\% \pm 0.03$ ), флавоноидтар ( $2.55\% \pm 0.05$ ), тері илегіш заттар ( $1.75\% \pm 0.03$ ) және алкалоидтар ( $1.56\% \pm$ ) жеткілікті, осы өсімдік құрамындағы алкалоидтар тобы басқалармен салыстырғанда көп мөлшерімен ерекшеленіп қызығушылығымызды тудырды [129].

Сонымен қатар, өсімдіктер құрамындағы амин қышқылдары, май қышқылдары және минералдардың сандық мөлшері зерттелінді (талдау нәтижелері 11, 12, 13 – кестелерде берілген). Амин қышқылдары ақуыз молекуласының қаңқасын құрайтын негізгі қосылыс болып табылады.



27 – Сурет. Өсімдіктер құрамындағы флавоноидтар мөлшерінің салыстырмалы гистограммасы (А-Ғ). Барлық мәліметтер төрт өсімдіктің стандартты ауытқуларымен ( $\pm$ ) ұсынылған. Статистикалық мәліметтердің айырмашылығы келесі түрде берілді: \*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*  $p < 0.0005$ ; \*\*  $p = 0.006$ ; \*  $p = 0.0015$ ; \*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*\*  $p < 0.0001$ , ns - статистикалық маңызды айырмашылық жоқ,  $p < 0.05$



28 – Сурет. Өсімдіктер құрамындағы алкалоидтар мөлшерінің салыстырмалы гистограммасы (А-Ғ). Барлық мәліметтер төрт өсімдіктің стандартты ауытқуларымен ( $\pm$ ) ұсынылған. Статистикалық мәліметтердің айырмашылығы келесі түрде берілді: \*  $p=0.0428$ , ns; \*\*\*\*  $p < 0.0001$ ;  $p=0.074$ , ns - статистикалық маңызды айырмашылық бар,  $p > 0.05$  (Б); \*\*  $p=0.0081$ ; \*\*\*\*  $p < 0.0001$  және статистикалық маңызды айырмашылық жоқ,  $p < 0.05$

Қазіргі кезде табиғатта 300 ден астам амин қышқылдардың түрі белгілі, сондай-ақ, ақуыз молекуласының құрамына табиғатта ең көп кездесетін 20 амин қышқылы кіреді. Атап айтар болсақ, треонин май қышқылдары, липидтер мен көмірсулардың биосинтезінде маңызды рөл атақарады. Цистеин, цистин және метионин ұлпалар мен ағзадағы органикалық күкірттің көзі, 11 – кестеде *Petrosimonia* өсімдіктеріндегі табиғатта көп кездесетін 20 амин қышқылының сандық мөлшері берілген [130].

11 – Кесте. *P. Sibirica*, *P. Glaucescens*, *P. triandra* және *P. brachiata* өсімдіктеріндегі амин қышқылдар құрамы

Амин қышқылдар	Құрамы, (%)			
	<i>P. sibirica</i>	<i>P. glaucescens</i>	<i>P. triandra</i>	<i>P. brachiata</i>
Аланин	0.618	0.625	0.645	0.611
Глицин	0.296	0.302	0.320	0.292
Валин	0.274	0.279	0.290	0.275
Лейцин	0.380	0.386	0.400	0.375
Изолейцин	0.362	0.370	0.388	0.358
Треонин	0.202	0.208	0.219	0.196
Серин	0.204	0.208	0.215	0.202
Пролин	0.306	0.309	0.345	0.300
Метионин	0.060	0.061	0.069	0.057
Аспарагин	1.254	1.260	1.286	1.246
Цистеин	0.032	0.033	0.039	0.030
Гидроксипролин	0.001	0.001	-	0.001
Фенилаланин	0.294	0.295	0.309	0.285
Глутамин	2.440	2.460	2.502	2.420
Орнитин	0.001	0.001	0.002	0.001
Тирозин	0.340	0.345	0.358	0.312
Гистидин	0.260	0.264	0.270	0.252
Аргинин	0.405	0.410	0.426	0.398
Лизин	0.202	0.203	0.218	0.197
Триптофан	0.094	0.095	0.100	0.092

11 – кестедегі мәліметтерді салыстырсақ, өсімдіктер құрамындағы амин қышқылдарға сандық сараптама жүрізу нәтижесінде аталған 4 өсімдік құрамында аспарагин және глютамин қышқылдарының сандық мөлшері көп екені белгілі болды.

Май қышқылдары – карбон қышқылдары, жануарлар мен өсімдік ағзасында бос күйінде кездеседі және липидтердің құрамына кіргенде энергетикалық және пластикалық қасиетті арттырады.

Май қышқылдары фосфолипидтердің құрамында биологиялық мембраналардың қалпына келуіне көмектеседі. Қанықпаған май қышқылдары адам және жануар ағзасында биологиялық белсенді заттардың биосинтезіне

қатысады, сонымен қатар қан плазмасы жарақаттанғанда қосымша диагностикалық тест болып табылады [131].

Май қышқылдары тізбектегі көміртек атомына жалғасқан сутектерге байланысты қаныққан және қанықпаған болып бөлінеді. Көміртек атомының санына байланысты төменгі (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), ортаңғы (C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub>) және жоғары (C<sub>9</sub>-C<sub>29</sub>) қышқылдар кездеседі. Төменгі май қышқылдары – ұшқыш, өткір иісті; ортаңғы май қышқылдары – жағымсыз иісі бар; жоғарғы май қышқылдары – қатты кристалды зат. Май қышқылдары спиртте және эфирде жақсы ериді [132].

Зерттеу нысаны болып отырған өсімдіктер құрамынан анықталған қаныққан және қанықпаған май қышқылдары 12 – кестеде көрсетілген.

Олардың ішінде олеин, линол, стеарин және пальмитин қышқылдары көп мөлшерде табылды. Аталған өсімдіктер құрамындағы май қышқылдарының сандық мөлшерін салыстыра келе *P. triandra* өсімдігінде жоғарыда аталған қышқылдардың пайызы басқа түрлерінен көбірек екені байқалды.

12 – Кесте. *P. Sibirica*, *P. Glaucescens*, *P. triandra* және *P. brachiata* өсімдіктеріндегі май қышқылдар құрамы

Май қышқылдары	Құрамы, (%)			
	<i>P. sibirica</i>	<i>P. glaucescens</i>	<i>P. triandra</i>	<i>P. brachiata</i>
Линол қышқылы	26.7	25.7	25.6	17.4
Олеин қышқылы	48.3	49.1	48.5	39.7
Пальмитин қышқылы	14.7	14.6	15.1	12.3
Стеарин қышқылы	5.2	5.8	6.1	4.6
Пальмитолеин қышқылы	0.9	0.5	0.8	0.7
Пентадекан қышқылы	1.6	1.7	1.6	1.2
Мириситин қышқылы	1.3	1.2	1.1	1.1
Линолен қышқылы	1.3	1.2	1.2	0.9

Қазіргі уақытта жануарлар мен өсімдіктердің өмірінде ерекше маңызға ие 14 микроэлементтер белгілі: темір, мыс, марганец, мырыш, кобальт, йод, фтор, молибден, ванадий, никель, стронций, кремний және селен. Олар ферменттердің белсенділігін арттырып, биохимиялық үрдістерді катализдейді. Көмірсулар, ақуыздар және дәрумендердің синтезіне ықпал етіп, зат алмасуға қатысады.

Минералды заттардың дәрілік өсімдіктердің метаболизмінде әр түрлі рөлі бар. Олардың ауырлығы немесе тапшылығы өсімдік метаболизміне әсер етеді. Минералды қоректік заттар топырақтың құрамына байланысты өсімдіктің биохимиясына, физиологиясына, анатомиясына және т.б. барлық аспектілеріне әсер етіп, ерекше маңызға ие. Топырақта болатын минералдардың концентрациясы активаторлар немесе ингибиторлар ретінде өсімдіктің екіншілік метаболизмінде маңызды рөл атқарады. Минералды элементтер өсімдіктердің көбеюі мен өсіуіне тікелей ықпал жасайды. Дегенмен, топырақтағы минералды

элементтер құрамы әр түрлі болғандықтан, бағалы дәрілік өсімдіктердің зат алмасу қызметіне кері әсерін тигізуі мүмкін [133, 134].

13 – Кесте. *P. Sibirica*, *P. Glaucescens*, *P. triandra* және *P. brachiata* өсімдіктеріндегі минералдар құрамы

Минералды элементтер	<i>P. sibirica</i>	<i>P. glaucescens</i>	<i>P. triandra</i>	<i>P. brachiata</i>
Құрамы, мкг/100 г				
Кальций	131.57	175.42	186.10	149.6
Магний	322.50	1262.57	318.05	368.88
Калий	624.32	640.01	579.87	673.84
Натрий	325.40	408.40	1075.80	1143.68
Темір	12.53	13.58	18.57	12.60
Мыс	3.14	1.32	23.02	7.97
Марганец	1.44	1.43	1.67	1.09
Мырыш	0.54	0.73	0.68	0.52
Никель	1.76	0.70	4.53	2,82
Құрамы, мг/кг				
Қорғасын	0.0398	0.0293	0.0952	0.0242
Кадмий	0.0135	0.0120	0.0149	0.0128

13 – кесте көрсетілгендей, *Petrosimonia* өсімдіктерінің құрамында магний, калий, натрий және кальций макроэлементтері мен темір, мыс, мырыш және никель микроэлементтерінің мөлшері жеткілікті. Ал қорғасын және кадмий ауыр металдар өте аз мөлшерде табылды, бұл дегеніміз өсімдік шикізатының уыттылығы өте төмен және фитопрепарат үшін сапалы көз болып табылатындығын білдіреді.

### 3.2 Биологиялық белсенді қосылыстар кешенін алу және бөлудің блок-жүйесін ұсыну

Өсімдік құрамындағы биологиялық белсенді заттар құрамы өсімдіктің өсу ортасына, сол өңірдің ауа-райына және жинау мезгіліне байланысты өзгереді. Өсімдік құрамында биологиялық белсенді заттар гүлдеген мезгілінде көп шоғырланады. Зерттеу нысанындағы өсімдіктер осы себепке байланысты гүлдеп тұрған уақытта (тамыз-қыркүйек айлары) жиналды.

Жиналған өсімдік шикізаттарын кептіру жағдайлары да назардан тыс қалған жоқ. Егер өсімдік шикізаттарын тікелей күн астында кептірер болсақ, құрамындағы биологиялық белсенді заттардың сапасы мен шығымына кері әсерін тигізеді. Зерттеу нысанындағы өсімдіктер жарықтан қорғалған жерде көлеңкеде кептірілді.

Өсімдік шикізаттарының ұсақталу дәрежесі де биологиялық белсенді заттардың экстракциялануына ықпал етеді, өсімдік шикізаттарын 1-4 мм өлшемі



болатындай етіп ұнтақталды. Бөлшек диаметрі кіші болған сайын экстрагентпен жанасу беті артып, биологиялық белсенді заттардың толық экстракциялануына мүмкіндік береді.

Биологиялық белсенді заттарды бөліп алу үшін қолданылатын еріткіштер мен оңтайландырылған технологиялық режимдерге іріктеу жүргізілді. Биологиялық белсенді заттарды алу үрдісін оңтайландыруға шикізат пен экстрагент ара қатынасы мен экстракция уақыты зерттелді.

Зерттеу нәтижесінде ең қолайлы параметр 80%- этил спиртінде, шикізат:экстрагент қатынасы 1:6, экстракция уақыты 72 сағат, екі рет, бөлме температурасында (20-25 °С) биологиялық белсенді заттар 42.7% - 52.9%-ға дейін экстракцияланды.

Жоғарыда атап өтілген технологиялық параметрлер *Petrosimonia* өсімдігінің *triandra*, *glaucescens*, *brachiata* және *sibirica* түрлерінен биологиялық белсенді заттарды ең жоғарғы мөлшерде бөлуді қамтамасыздандырады. Жүргізілген зерттеулер нәтижелері аталған өсімдіктердің сапалық көрсеткіштері бойынша химиялық құрамы бірдей екені белгілі болды. Өсімдіктердің сапалық және сандық талдау нәтижесіне сүйене отырып, стероидтар, тері илегіш заттар, полифенолдар және алкалоидтарды оқшаулау мен бөлудің технологиялық сызба-нұсқасын ұсынуға мүмкіндік берді.

3.2.1 Өсімдік шикізатынан мацерация әдісі арқылы бактерияға және қабынуға қарсы фитопрепарат алу

*Petrosimonia* өсімдік шикізатының фитохимиялық, технологиялық және биологиялық параметрлері ҚР мемлекеттік Фармакопея талаптары бойынша анықталды.

Өсімдік шикізатынан құрғақ сығынды алу жолы қарастырылып, биологиялық белсенді заттарды өсімдік жасушаларынан толық бөлу және алынған сығындылардың сақталу шарт-жағдайы қамтамасыз етілді.

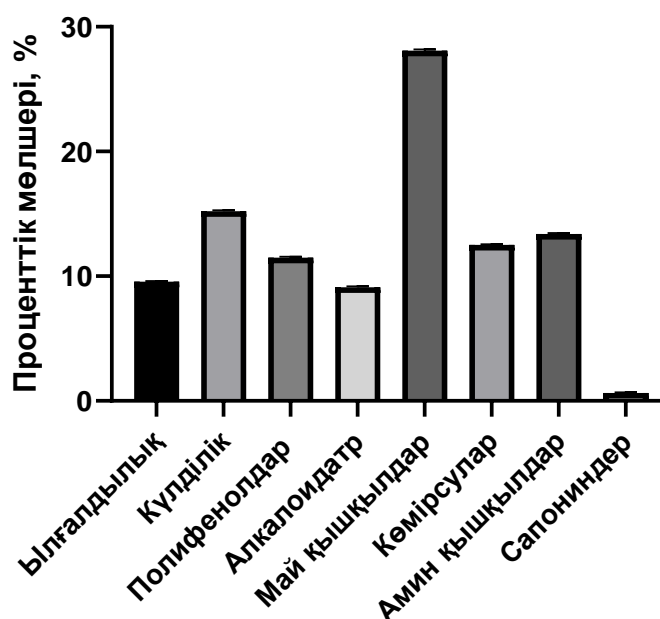
Зерттеу жұмысы нәтижесінде бактерияға және қабынуға қарсы фитопрепарат алу технологиясының тиімді шарттары нақтыланды: ең алдымен кептіріліп ұнтақталған шикізатты ЖКФ СО<sub>2</sub> экстракторынан өткізу арқылы өсімдіктің құрамындағы кейбір липофильді заттардан тазартылып алынды.

Содан кейін мацерация әдісін қолданып, 80%- этанолмен, 1:6 қатынас, бөлме температурасында, 6 сағат экстракция жасалынып, экстракция үрдісі 2 рет құрамындағы биологиялық белсенді заттардың негізгі кластарына сандық талдау жүргізілді. Сандық талдау нәтижелері төменде кестеде көрсетілген.

14 – Кесте. *Petrosimonia* өсімдік шикізатынан алынған құрғақ экстракт құрамындағы негізгі биологиялық белсенді кластардың сандық мөлшері

№	Талдау түрі	Сандық мөлшері, (%)±SEM
1	Ылғалдылық	9.59±0.03
2	Күлділік	15.21±0.03
3	Полифенолдар	11.49±0.03
4	Алкалоидтар	9.12±0.04
5	Май қышқылдары	28.08±0.05
6	Көмірсулар	12.50±0.03
7	Амин қышқылдар	13.38±0.04
8	Сапониндер	0.63±0.03

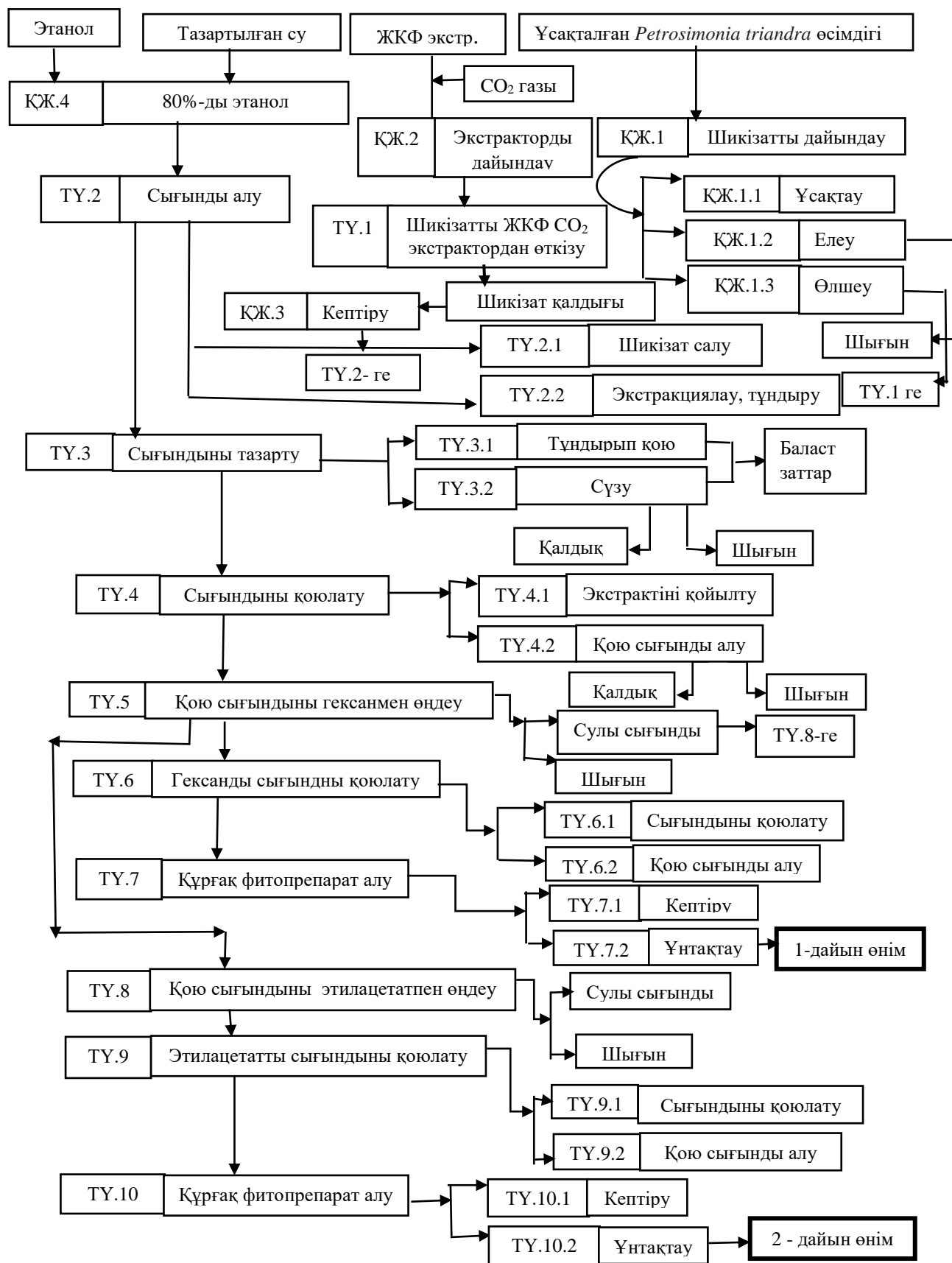
14 – кестедегі сандық нәтижелер *Petrosimonia* өсімдік шикізатынан алынған құрғақ экстракт құрамында алкалоидтар, май және амин қышқылдар басқа кластармен салыстырғанда көп мөлшерде екені белгілі болса, ал сапониндер өте аз екендігі анықталған. Құрғақ экстрактті гексан еріткішімен сұйық-сұйық экстракциясын жүргізу арқылы алынған фракция құрамында май қышқылдары жеткілікті мөлшерде табылған (16-кесте).



29 – Сурет. *Petrosimonia* өсімдік шикізатынан алынған құрғақ экстракт құрамындағы негізгі биологиялық белсенді кластардың дисперсияларының бір жақты талдау маңыздылығы бойынша орташа мәндердің гистограммасы. Статистикалық мәліметтердің айырмашылығы келесі түрде берілді: \*\*\*\* -  $p < 0.0001$ ; ns – статистикалық маңызды айырмашылық жоқ,  $p < 0.05$

15 – Кесте. Мацераця әдісімен *Petrosimonia* өсімдігінен бактерияға және қабынуға қарсы фитопрепарат алу үрдісінің материалдық баланысы

Жүктелді			Алынды		
Шикізат аты	Мөлшері, кг		Соңғы өнім, қалдықтар мен шығындар атауы	Мөлшері, кг	
	Техникалық масса	100 %- есептеу		Техникалық масса	100 %- есептеу
1. <i>Petrosimonia triandra</i> жер үсті бөлігі	1		1. Сулы-спирт сығынды	0.177	
2. СО <sub>2</sub> -газы	25		2. Этил спирті айдалған	3.98	
3. Этил спирті	5.05		3. Балласт заттар	0.04	
4. Тазартылған су	1.60		4. Пайдаланылған шикізат (шрот)	0.803	
5. Гексан	3.31		5. Айдалған гексан	2.16	
6. Этилацетат	4.51		6. Айдалған этилацетат	4.01	
			7. Шығындар: - <i>Petrosimonia triandra</i> шикізаты	0.02	
			- СО <sub>2</sub> -газы	25	
			- спирт	1.07	
			- гексан	1.15	
			- этилацетат	0.5	
			- су	1.56	
Барлығы	40.47		Барлығы	40.47	



30 – Сурет. *Petrosimonia* өсімдігінің жер үсті бөлігінен бактерияға және кабынуға қарсы фитопрепарат алудың принципіалды сызба-нұсқасы

30 – суретте *Petrosimonia* өсімдігінің жер үсті бөлігінен құрғақ сығындыны алу жолдарын принципіалды сызба-нұсқадан көруге болады. Жұмыстың жалпы сатылары: экстракциялау, сүзу, сығындыны қоюлату, органикалық еріткіштермен өңдеу, кептіру және сақтау шарттары болып табылды.

ТҮ – технологиялық үрдіс,

ҚЖ – қосалқы жұмыс.

Қосалқы жұмыс сатысында (ҚЖ.1, ҚЖ.2 және ҚЖ.4) өсімдік шикізатын, ЖКФ экстрактор,  $\text{CO}_2$  газы мен 80% этанолды дайындау жұмыстары жүргізілді. ТҮ.1- сатысында шикізатты ЖКФ  $\text{CO}_2$  – экстракторынан өткізу жұмысы жүзеге асырылып, бұл үрдіс 2 сағатқа жалғасты.

ҚЖ.3 – сатысында экстрактордан өткізілген өсімдік қалдығы (шрот) күн көзінен қорғалған жерде кептіріліп, ТҮ.2 сатысына дайындалды.

ТҮ.2- сығынды алу сатысында шикізатты еріткіш көмегімен экстракциялау арқылы белгілі бір уақытқа тұндырып қойылды. Бұл сатыда экстракция уақыты 6 сағатқа жалғасып, жұмыс барысында әлсін-әлсін шайқау арқылы биологиялық белсенді заттардың толық экстракцияланып шығуы қамтамасыз етілді.

ТҮ.3 – тазарту сатысында алдымен сығындыны сүзу арқылы механикалық қоспалармен өсімдік қалдықтарынан арылу жұмыстары жүргізілді. Сүзілген сығынды құрамындағы балласт заттар мен хлорофилдерден құтылу үшін ұнтақталған белсендендірілген көмір салынып, тоңазытқышқа  $8\text{ }^{\circ}\text{C}$  жағдайда бір түнге қалдырылды. Содан кейін сығындыны сүзіп, ары қарай ТҮ.4 – сатысына қойылуға жөнелтілді.

ТҮ.4 – буландыру жұмысы роторлы буландырғышта  $45\text{-}50\text{ }^{\circ}\text{C}$  температурада іске асырылды. Сығындыны құрамындағы экстрагенттен айыру толығымен орындалып, жұмыс нәтижесінде қою экстракт алынды.

ТҮ.5 – сатысында алынған қою сығынды гексан еріткішімен өңделіп, гександы сығынды алынып, ТҮ.6 - қоюлату сатысына жіберілді.

ТҮ.6 – қоюлату үрдісі роторлы буландырғышта вакуум жағдайында  $30\text{-}35\text{ }^{\circ}\text{C}$  температурада жүргізілді, алынған қою сығынды құрғақ фитопрепарат алу үшін ТҮ.7 – сатысына дайындалды.

ТҮ.7 – бөлме температурасында кептіріліп ұнтақталды және дайын 1- өнім қоңыр түсті фитопрепарат алынды.

ТҮ.8 – сатысында гексанмен өңделгеннен қалған сулы сығындыны ары қарай этилацетатпен экстракцияланды.

ТҮ.9 – этилацетатты сығындыны қоюлату вакуум жағдайында,  $45\text{-}50\text{ }^{\circ}\text{C}$  температурада роторлы буландырғышта жүзеге асырылды. Жұмыс барысында экстракт құрамындағы еріткіштен арылу толығымен орындалып, қою сығындыға қол жеткізілді.

ТҮ.10 – алынған қою сығынды құрғақ фитопрепарат алу үшін бөлме температурасында, күн көзінен таса жерде кептірілді. Кепкен сығынды ұнтақталып, 2-ші дайын өнім күнгірт-сары құрғақ фитопрепарат алынды.

ҚЖ – жұмыс нәтижесінде қол жеткізілген дайын өнімдер салқындатқышта 20 °С температурадан аспайтын жағдайда сақталды.

ТУ.5 – сатысында алынған гександы және ЖКФ CO<sub>2</sub> – экстракциясымен алынған сығындылардың сапалық және сандық құрамы.

*Petrosimonia* өсімдігінен класикалық мацерация әдісі бойынша алынған гексан экстрактісі мен заманауи жоғары критикалық флюиді CO<sub>2</sub> – экстракция көмегімен алынған липофильді заттардың сапалық және сандық құрамы ГХ-МС да салыстырмалы сарапталды. Сараптау нәтижелері 16 – және 17 – кестелерде көрсетілген.

16 – Кесте. Класикалық мацерация әдісі арқылы *Petrosimonia* өсімдігінен алынған гексан экстрактісінің компоненттік құрамы

Зат №	Бөліну уақыты, Т <sub>г</sub> , мин	Құрамы, %	Компоненттер
1	14.23	0.87	<i>n</i> -Нонаналь
2	35.07	5.51	Гексагидрофарнезил ацетон
3	41.22	1.07	Гексадекан қышқылының метил эфирі
4	41.37	11.86	Метил 14-метилпентадеканоат
5	45.41	31.32	Гексадекан қышқылының этил эфирі
6	48.72	5.8	Линол қышқылының метил эфирі
7	48.92	18.65	Метил 11-октадеценоат
8	49.53	4.57	16-метил-гептадекан қышқылы
9	50.48	3.13	Линол қышқылының этил эфирі
10	54.53	1.99	Тетракозан
11	56.29	1.9	Метил докозаноат
12	56.62	3.84	Диизооктилфталат
13	56.95	7.54	Фитол
14	57.14	1.96	3-этил-5-(2-этилбутил)октадекан
Жалпы		100	

16 – кестеде көрсетілгендей, мацерация әдісімен *Petrosimonia* өсімдігінің гексан экстрактісінің құрамында гексадекан қышқылының этил эфирі 31.32%, 11-метилоктадеценоат 18.65% және 14-метилпентадекан қышқылы 11.86%- ды құрап, басқа компоненттермен салыстырғанда көп мөлшерде екені анықталды.

17 – Кесте. *Petrosimonia* өсімдігінің ЖКФ CO<sub>2</sub> –экстракция сығындысының компоненттерін хромато-масса-спектрометриялық анықтау нәтижелері

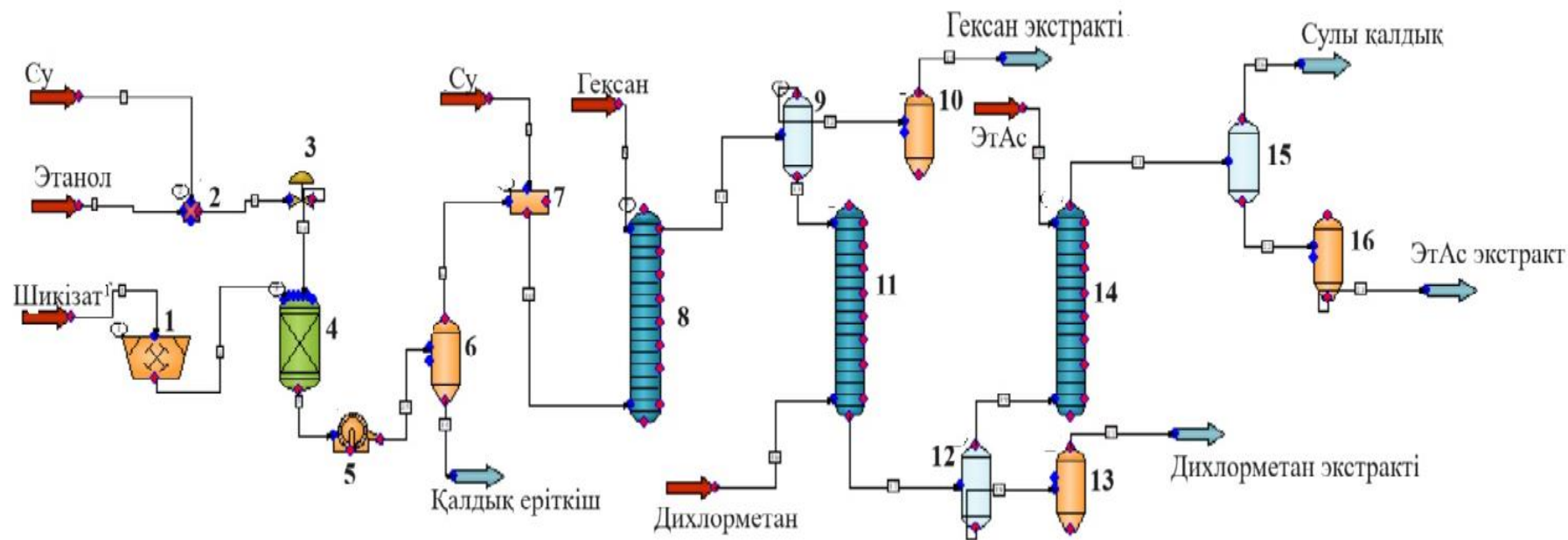
Зат №	Бөліну уақыты, Т <sub>г</sub> , мин	Құрамы, %	Қосылыстар
1	7.523	4.02	Этилбензол
2	11.105	12.06	Эвкалиптол
3	11.829	16.1	Глицерин
4	13.052	1.66	5-этинилдигидро-5-метил- 2(3Н)-фуран

## 17 – Кестенің жалғасы

5	13.269	1.05	$\alpha$ -ионол
6	13.690	0.97	$\beta$ -пинен
7	14.029	0.59	Эндо-борнеол
8	14.070	0.42	(+)-2-борнанон
9	14.946	1.27	2,7-диметил-1,6-октадиен
10	15.058	1.46	4 $\beta$ -гидроксиахипендол
11	15.357	16.34	4 $\alpha$ -гидроксиахипендол
12	15.657	1.3	Тетрагидрофурфурил ацетат
13	16.037	0.65	2-ацетилтиазол
14	16.733	1.62	2-фтор-1-метил-4-нитробензол
15	17.293	1.01	Пентакозан
16	19.173	1.82	4-гидрокси бензой қышқылының метил эфирі
15	19.229	2.54	2'-гидроксиацетофенон
18	19.728	1.77	Гентриаконтан
19	19.933	2.63	Апоцинин
20	20.071	1.74	4-гидрокси-3-метокси бензой қышқылының метил эфирі
21	20.372	1.69	Гомованилил спирті
22	21.459	3.43	[(1S, 2S, 3R, 4S, 6R) -3-гидрокси-4,6-диметил-2-нитроциклогексил] ацетат
23	21.884	1.56	N-(циклопропилметил)-4-фторбензамид
24	22.193	1.1	5-бутилтиазол
25	23.065	1.78	1,2,4-трипропил бензол
26	23.415	0.45	Гексадекан қышқылының этил эфирі
27	29.983	0.86	5 $\alpha$ -стигмаст-14-ен-3 $\beta$ -ол ацетат
28	30.101	1.8	4,4'-изопропилиден-бис-(2-циклогексилфенол)
29	30.295	2.53	Дигидродибензол [a] ксантон
30	30.670	0.17	Идентификацияланбады
31	34.523	1.44	Идентификацияланбады
32	34.579	1.84	Фендилин
33	34.648	2.17	Идентификацияланбады
34	34.738	1.46	4,4'-изопропилиденедициклогексанол
35	34.794	0.69	Идентификацияланбады
Жалпы		99.99	

17 - кестеде көрсетілгендей, жоғары критикалық флюидті CO<sub>2</sub> – экстрактор көмегімен алынған экстракт құрамында терпендер, күрделі эфирлер және ароматты туындылардың бар екенін көрдік. Ең көп мөлшерде 4 $\alpha$ -гидроксиахипендол – 16.34%, эвкалиптол – 12.06% және этилбензол – 4.02% құрайды. Жоғары критикалық флюидті CO<sub>2</sub> – экстракция барысында орташа қысым (180 bar) мен төмен температура (40 °C) жағдайында майлы және ұшқыш заттардың оқшауланатын тиімді параметрлері бола алады.





1- ұнтақтағыш, 2 – еріткіштерді араластырғыш, 3 – еріткіш өлшегіш, 4 – экстрактор, 5 – сүзгі, 6, – буландырғыш, 7 – суспензиялау ваннасы, 8, 11, 14 – сұйық/сұйық экстрактор, 9, 12, 15 – компоненттерді бөлгіш

31 – Сурет. *Petrosimonia* өсімдігінің жер үсті бөлігінен бактерияға және қабынуға қарсы фитопрепарат алудың аппараттық сызба-нұсқасы

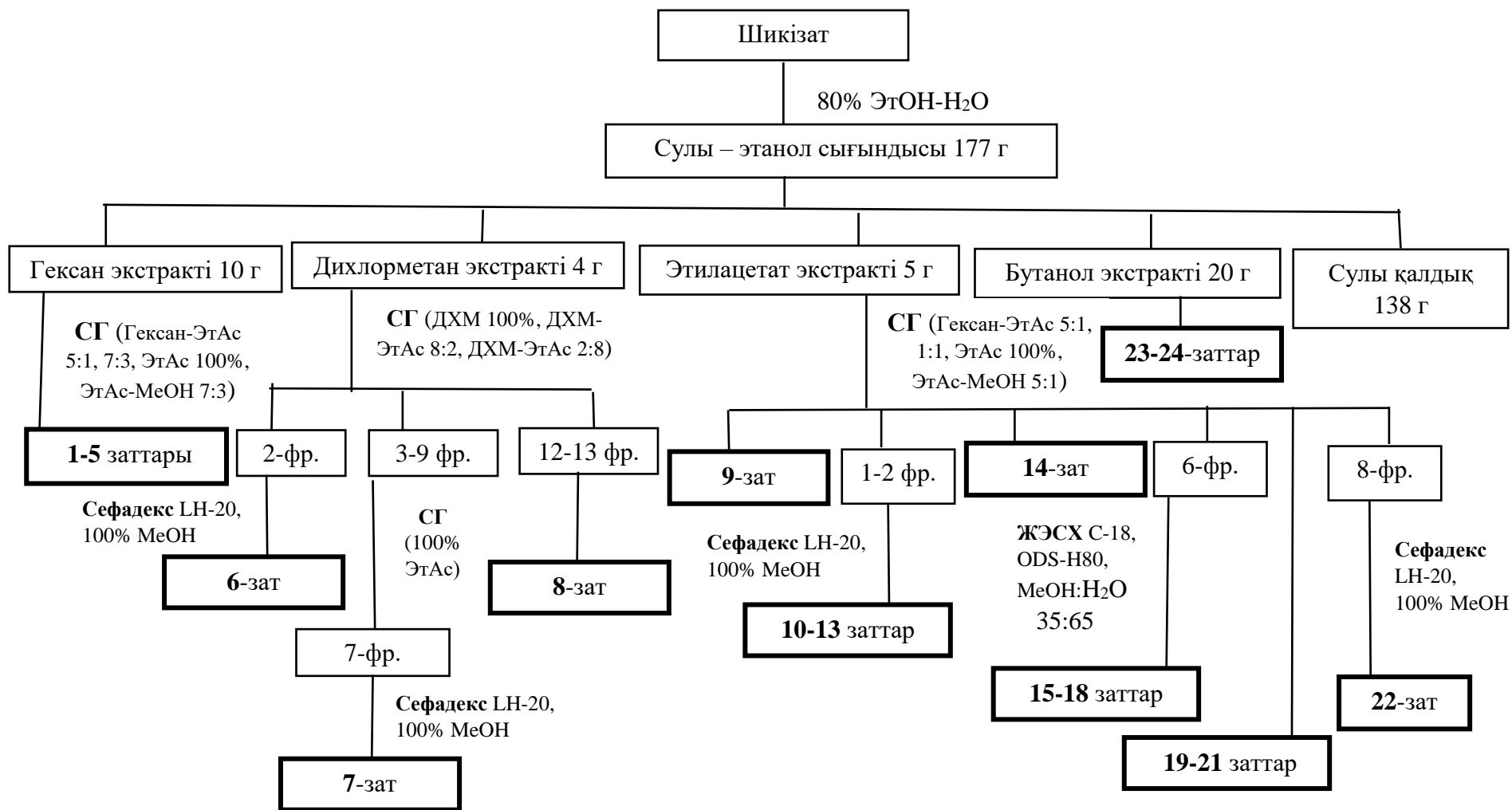
### 3.3 Биологиялық белсенді қосылыстарды бөлу және идентификациялау

Кептіріліп ұнтақталған *Petrosimonia* өсімдік шикізаттары ЖКФ CO<sub>2</sub>-экстракторынан өткізіліп, алынған өсімдік қалдығына (шрот) 80% этанолмен 1:6 қатынаста, бөлме температурасында 72 сағатқа экстракция жасалды. Экстракция үрдісі екі рет қайталанды. Алынған сығындылар жинақталып, роторлы буландырғышта қоюлатылды. Қою сығынды тартқыш шкаф астында бөлме температурасында кептіріліп, ары қарай сұйық-сұйық экстракциясын жүргізу үшін сумен суспензияланды. Содан кейін гексан, дихлорметан, этилацетат және бутанол еріткіштермен өңделді. Жұмыс нәтижесінде гексан, дихлорметан, этилацетат және бутанол сығындылары алынды. Зерттеліп отырған өсімдік сығындыларынан 24 зат жеке күйінде бөлінді. Жеке күйінде 1 алканол (2), 1 эфир (3), 5 стероид (1, 4, 5, 6, 8), 2 фенол қышқылы (9, 10), 8 флавоноид (7, 11-14, 19-21, 23, 24) және 5 (15-18, 22) алкалоиды қосылыс бөлінді. Жеке заттарды бөлу және тазарту жұмыстары силикагель-60 және сефадекс LH-20 бағаналы хроматографиялары мен C-18 ODS-H80 бағанасымен жабдықталған ЖЭСХ-да жүргізілді.

#### 3.3.1 Алканол мен 4-гидроксибенетил тетрадекан қышқылын идентификациялау

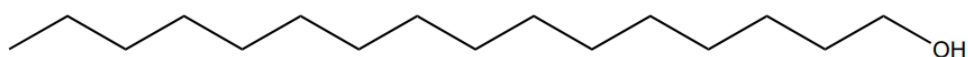
Гексан экстрактісінен бөлінген 2-зат – ақ тұсті аморфты ұнтақ, балқу температурасы 74.7-76.8 °С. ИҚ (KBr) спектроскопиялық талдауда 3300, 2956, 2917, 2849, 1473, 1463, 1061, 730 және 719 см<sup>-1</sup> жұтылу жолақтарын көрсетті. EI-MS, *m/z* 242.2 [M]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm) δ: 0.87 (3H, т, CH<sub>3</sub>, H-16), 1.27 (26H, бр.с, H-3–15), 1.56 (2H, м, H-2) және 3.65 (2H, м, H-1). <sup>13</sup>C-ЯМР (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 63.4 (C-1), 32.9 (C-2), 31.7 (C-14), 29.5 (C-6–11), 29.4 (C-12), 29.6 (C-13), 29.4 (C-5), 29.3 (C-4), 25.6 (C-3), 22.8 (C-15), 14.0 (C-16). Спектрлік талдау нәтижелері мен әдебиет деректерін салыстырып талдау арқылы 2 – зат C<sub>16</sub>H<sub>34</sub>O молекулалық формуласына сәйкес келетін n-гексадеканол болып тұжырымдалды [135].

3-зат – ақ ұнтақ түрінде бөлінді, молекулалық формуласы C<sub>22</sub>H<sub>36</sub>O<sub>3</sub> –ға сәйкес EI-MS *m/z* 348.5 [M]<sup>+</sup> молекулалық массаны көрсетті. ИҚ (KBr) спектроскопиялық талдауда ОН тобы 3370 см<sup>-1</sup> аймағында жұтылуды көрсетсе, эфирдің С=О тобы 1737 см<sup>-1</sup> аймағында жұтылды. <sup>1</sup>H-ЯМР спектрінде ароматты аймақтың протондары AA'XX' жүйесін көрсетіп, бензол сақинасында пара орналасқан екі орынбасардың бар екенін білдіреді. δ 7.08 (2H, д, J=8.5 Гц, H-2 және H-6) және 6.76 (2H, д, J=8.5 Гц, H-3 және H-5) сигналдары ароматты протондардың химиялық ығысуын көрсетті. Фенетилокси бірлігіндегі резонанс сигналдары δ 2.86 (2H, т, J=7.0 Гц, H-7) және δ 4.23 (2H, т, J=7.0 Гц, H-8) аймақтарында байқалды.

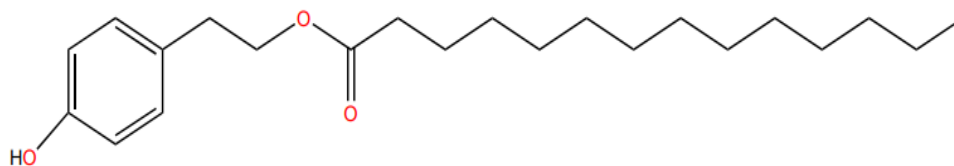


32 – Сурет. *Petrosimonia* өсімдіктерінен ББЗ бөудің жалпы блок-жүйесі

Күрделі эфир функциясына  $\alpha$  және  $\beta$  жағдайларда орналасқан метилен топтарының протондары  $\delta$  2.28 (2H, т,  $J=7.5$  Гц, H-2') және  $\delta$  1.59 (2H, м, H-3') ығысу сигналдарын, ал терминалдық метил тобының протондары  $\delta$  0.88 (3H, т,  $J=7.0$  Гц, H-14') аймағында ығысуын көрсетті. Алифатты тізбектің метилендері  $\delta$  1.25-1.31 (20H, бр с, H-4'-H-13') химиялық ығысуларды берді.  $^{13}\text{C}$ -ЯМР (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): Күрделі эфирдің қышқыл бөлігіндегі карбонил тобы 173.9 (C-1') аймағында ығысты, ароматты сақинаның көміртек атомдары: 154.2 (C-4), 130.0 (C-1, 2, 6) және 115.3 (C-3, 5), фенетилокси бірлігіндегі көміртектер: 64.9 (C-8) және 34.3 (C-7), алифатты тізбектің көміртектері: 4.3 (C-2'), 31.9 (C-12'), 29.7 (C-7', 8'), 29.6 (C-9'), 29.6 (C-6'), 29.4 (C-10'), 29.3 (C-11'), 29.2 (C-5'), 29.1 (C-4'), 24.9 (C-3'), 22.6 (C-13') және 14.0 (C-14'). Жоғарыда келтірілген мәліметтер мен әдебиет деректерін салыстыру нәтижесінде 3-зат 4-гидроксифенетил тетрадекан қышқылының құрылымын нақтылады [136].



33 – Сурет. н-гексадеканол құрылымы (2-зат)



34 – Сурет. 4-гидроксифенетил тетрадекан қышқылының құрылымы (3-зат)

### 3.3.2 Стероидтарды идентификациялау

Стероидар – **1**, **4**, **5**, **6** және **8** қосылыстары гексан және дихлорметан экстрактілерінен бөлінді. Олардың негізгі сапалық реакциялары ЖҚХ -да жасалды.

Гексан экстрактісінен бөлінген **1** – зат ақ түсті кристал, балку температурасы 161-163 °С. УК спектрде белсенді емес, жұқа қабатты хроматографияға (VII жүйе, 9.5:0.5) 10%  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  – ның 15%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  дағы ерітіндісімен айқындағанда жай көзге көрінетін қара жасыл түсті жалғыз дақ байқалды, бұл стерол қаңқасының барын көрсететін сапалық реакция.

**1** – затты ИҚ (KBr) спектроскопиялық талдауда, байқалған  $3422.8\text{ см}^{-1}$  жолақтары О-Н сіңірілуін көрсетеді.  $2937.0\text{ см}^{-1}$  жолағы =СН сіңірілуін айқындаса,  $2867.3\text{ см}^{-1}$  жолағында С-Н тобтарының сіңірілгені байқалды.  $1464\text{ см}^{-1}$  сақинадағы (СН<sub>2</sub>) топтарын және  $1379\text{ см}^{-1}$  жолақтары –СН<sub>2</sub> (СН<sub>3</sub>) 2γ

топтары үшін сіңірілген жолақ екенін аңғартады.  $1053.9 \text{ см}^{-1}$  жолағы циклоалкандардың сіңірілу жолағын көрсетеді.

Масс спектр нәтижелері бойынша сигналдар  $m/z$  412 (8), 369 (3), 273 (10), 271 (29), 213 (8), 111 (4), 107 (33), 55 (100). Молекулалық иондың шыңы  $m/z$  412  $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$  формуласына сәйкес келетін қосылыс.

ЯМР  $^1\text{H}$  спектрі (13 – кесте) Н-3 протонының  $\delta$  3,525 ppm-де мультиплет ретінде пайда болғанын көрсетті,  $\delta$  5.33(т), 5.15(м) және 5.02(м) кезінде олефиндік протон үшін сигналдардың бар екені белгілі болды. Сондай-ақ, метил протондарына келесі мәліметтер : 0.68(с), 0.78(с), 0.80(с), 0.82(с), 0.90(с) және 1.01(с) сәйкес келеді.

ЯМР  $^{13}\text{C}$  сәйкесінше С-5 және С-6 қос байланыстарымен көрсетілген 140.77 ppm және 121.71 ppm жылдамдықтарында танылатын сигналдарды көрсетті. 19.04 ppm мәні бұрыштық көміртегі атомына (С19), С-20 үшін 138.30 ppm және С-21 үшін 129.29 ppm сәйкес келеді. 140.77, 138.31, 129.29 және 121.72 ppm сигналдары – алкенді көміртектер. Спектрлерде 6 метил, 9 метилен, 11 метин және үш төртіншілік көміртегі бар 29 көміртек сигналын көрсетті. Эксперименттік нәтижелерді физико-химиялық зерттеу мен әдебиет дерек көздерін салыстырып талдау негізінде **1** – зат стигмастерол деп тұжырымдалды [137-].

4– зат – ақ кристалды инелер түрінде бөлінді, молекулалық массасы MS,  $m/z$  396  $[\text{M}]^+$  молекулалық формуласы  $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}$ , балқу температурасы  $163\text{--}165^\circ\text{C}$ . Әдебиет дерек көздеріндегі EI-MS, ИҚ және ЯМР спектр нәтижелері мен практикалық алынған мәндерді салыстырып, **4-зат** эргостерол ретінде идентификацияланды [138].

**5-зат** – ақ ұнтақ, балқу температурасы  $288\text{--}289^\circ\text{C}$ , молекулалық ионы  $m/z$  575. ЖҚХ да (VII жүйе, 9:1) жалғыз дақ болды, 15% -ды  $\text{H}_2\text{SO}_4$  мен өңдеу нәтижесінде қанық жасыл түс көрсетті.

**5** – заттың  $^1\text{H}$ -ЯМР спектрі (13 – кесте) көрсетілгендей алты метил:  $\delta_{\text{H}}$  0.65 (3H, с, Н-18), 0.79 (3H, д,  $J = 8.1$ , Н-29), 0.80 (3H, д,  $J = 6.9$ , Н-27), 0.84 (3H, д,  $J = 6.3$ , Н-26), , 0.95 (3H, д,  $J = 6.3$ , Н-21), 0.99 (3H, с, Н-19); бір олефинді орын басқан протон  $\delta$  5.15 (1H, br.d,  $J = 4.8$ , Н-6); екі протон 4.83 (1H, дд,  $J = 8.4$ , 15, Н-23) және 4.97 (1H, dd,  $J = 8.4$ , 15.0, Н-22); бір аномерлі протон 4.19 (1H, д,  $J = 7.8$ , Н-1') химиялық ығысу мәндерін көрсетті.

$^{13}\text{C}$ -ЯМР спектрі (13 – кесте) талдау нәтижесінде осы зат молекуласында 35 көміртек сигналы бар екені анықталды.

$\delta_{\text{C}}$  100.76 химиялық ығысуы аномерлі көміртегі бар моносахарид молекуласы бар екенін көрсетсе,  $\delta_{\text{C}}$  69.87, 73.22, 75.54 және 76.15 химиялық ығысу мәндері төрт метинді және  $\delta_{\text{C}}$  61.43 мәніндегі метиленді химиялық ығысулар С-2', С-3', С-4', С-5' және С-6' көміртектеріне сәйкес  $\beta$ -D-глюкопираноза екені анықталды.

$\delta_{\text{C}}$  78.72 ығысу аймағы спирттік гидроксил тобымен байланысқан С-3 көміртегі атомына сәйкес келеді.  $\Delta_{\text{C}}$  121.71 (С-6),  $\delta_{\text{C}}$  128.92 (С-23),  $\delta_{\text{C}}$  137.99 (С-

22) және  $\delta_C$  139.97 (C-5) химиялық ығысулар стерол молекуласындағы олефинді көміртекті білдіреді. H-1' аномерлі протонының  $J = 7.8$  Гц мәні H-2' протонына аксиалды жағдайда жатқанын көрсетіп, бұл глюкопиранозид фрагменті стерол фрагментіне  $\beta$  жағдайда байланысқандығын анықтайды.

$^1\text{H}$ - және  $^{13}\text{C}$ -ЯМР химиялық ығысу мәндері мен физикалық мәліметтеріне сүйеніп, **5** – зат стигмастерол 3-O- $\beta$ -D-глюкопиранозид екені дәлелденді [139].

**6**-зат – ақшыл түсті кристалды инелер түрінде бөлінді, балқу температурасы 134–135 °С, Масс-спектрі EI-MS,  $m/z$  414 [ $\text{M}^+$ ]. УК жарықта белсенді емес, ЖҚХ да (VII жүйе, 9.5:0.5) 10%  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  – ның 15%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ерітіндісін сепкенде жай көзге көрінетін қанық күлгін түсті дақ байқалды.

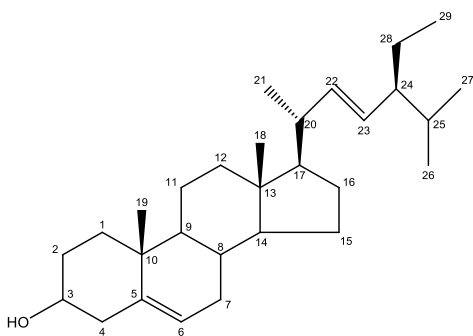
**6** – заттың  $^1\text{H}$ -ЯМР спектр сигналдары негізінен төменгі өріс аймағында байқалды. Спектрлерде жоғары химиялық ығысу мәндері бар тек екі сигналды көрсетті: біріншісі бірі олефиндік  $\delta_H$  5.32 аймағында резонанс тудырса, ал екіншісі  $\delta_H$  3.52 аймағында байқалды.  $\Delta_H$  5.32 (1H, бр. Д,  $J = 4.8$  Гц) кезіндегі олефиндік сигнал стеролдарға тән болып, ол  $\beta$ -ситостерол қаңқасындағы H-6 протонына сәйкес келеді.  $\Delta_H$  3.52 сигналы мультиплет ретінде гидроксид тобымен байланысқан C-3 көміртегінің протонын білдіреді. Сонымен қатар төрт қайталама метил тобы ( $\delta_H$  0.91, 0.82, 0.81 және 0.78 барлығы тиісінше  $J = 6.5, 7.2, 6.8$  және  $6.8$  Гц) және екі үшінші метил тобы ( $\delta_H$  0.68 және 1.00) бар алты протондық сигнал айқын байқалды.

$^{13}\text{C}$ -ЯМР спектрі фитостеролдарға тән 29 көміртегі сигналын көрсетті. Бұл деректер  $\beta$ -ситостерол құрлымына сәйкес келеді.  $\beta$ -ситостерол (**6**) мен стигмастерол (**1**) өте ұқсас қосылыстар. Екі қосылыс арасындағы жалғыз айырмашылық – стигмастеролда C(22)=C(23) қос байланыстың және  $\beta$ -ситостеролда C(22)-C(23) жалғыз байланыстың болуымен ерекшеленеді [140].

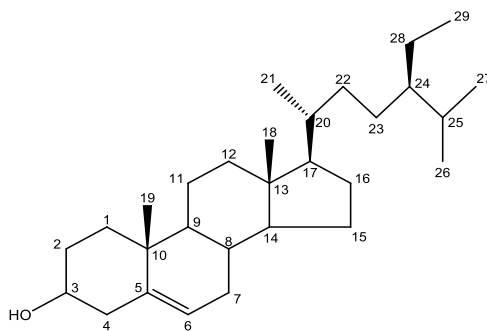
**8**-зат – ақ қиыршық қар тәрізді ұнтақ, балқу температурасы 276-278 °С. Қосылыстың  $^1\text{H}$ - және  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектрлері (18 – кесте) 58 сутек пен 35 көміртегі атомы бары анықталды.  $^1\text{H}$ -ЯМР спектрі  $\delta$  0.85 және 1.24 кезіндегі химиялық ығысуы екі үшіншілік метил сигналдарын көрсетті. Протонның ЯМР спектрінде  $\delta$  5.38-де дублет ретінде бір олефинді қос байланыс протонын анықтайды. Ал екі жоғары өріс сигналдары  $\delta$  0.88 және 0.96 сәйкесінше 26- және 27-позицияларында екі қайталама метил тобының болуы молекулалық құрылым қаңқасында изопропенил тобының болуын білдіреді.  $\delta_H$  0.92-дегі өте жоғары химиялық ығысу қарқындылығы 3H және байланысу константасы  $J=7.1$  Гц болатын триплетті 29-позициядағы метил тобына тағайындалады. Химиялық ығысуы  $\delta$  1.04-тегі жоғары өріс сигналының байланысу константасы  $J=6.7$  Гц болатын 3H қарқындылығы молекулалық құрылымның 21-позициясындағы екінші реттік метил тобына сәйкес келеді. Химиялық ығысуы  $\delta$  2.07-3.32 аймағы мультиплет ретінде қант бөлігінің бес протонын және өте төмен химиялық ығысу сигналы  $\delta$  5.24 гликозидтің аномерлі протонын аңғартады.

**8-зат** қосылысының  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектрінде химиялық ығысулары  $\delta_{\text{C}}$  20.7 және 19.8 молекулалық құрылым үшін 25- позициясында байланысқан екі метил тобына тағайындалды. Ал төменгі өрістегі үш химиялық ығысу  $\delta$  18.3, 20.2 және 18.9 сәйкесінше С-18, С-19 және С-21 позицияларында байланысқан көміртектер үшіншілік метил топтарына сәйкес келеді.

Жоғары өріс сигналдары  $\delta_{\text{C}}$  31.7, 36.4 және 56.7 сәйкесінше 8-, 10- және 14-позицияларындағы көміртегіге тағайындалды. Салыстырмалы төмен өрістің химиялық ығысу сигналдары  $\delta$  49.12, 50.92 және 142.82 сәйкесінше С-9, С-13 және С-5 позицияларындағы көміртектерге тиеселі. Жоғары өрістің химиялық ығысулары  $\delta_{\text{C}}$  38.29, 29.20, 77.3, 40.15, 121.6, 39.42, 21.6, 40.12, 61.43 және 77.3 циклогексил үшін 1, 2, 3, 4, 6, 7, 11, 12, 15 және 16-позициялардағы циклопентил көміртектеріне тән. Басқа  $\delta_{\text{C}}$  36.89, 35.14, 27.84, 45.51, 31.53 және 23.94 ығысу сигналдары 20, 22, 23, 24, 25 және 28-көміртегі сандары үшін тағайындалды. Олар алты көміртектің бүйірлік тізбегін құрайтын циклопентил сақинасының 17-көміртегімен байланысқан.  $\Delta_{\text{C}}$  124.3 химиялық ығысуы 17-көміртегі үшін тағайындалды, ол бүйірлік тізбектің циклопентил сақинасымен байланыс нүктесі болып табылады. Өте төмен химиялық ығысулар 100.76, 75.54, 78.72, 73.22 және 77.20-да қант бөлігіндегі көміртегінің сигналдары.  $^1\text{H}$ -ЯМР,  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектрлік деректер және т.б. физикалық қасиеттеріне негізделіп бөлінген таза **8-зат**  $\beta$ -ситостеролдың 3-О- $\beta$ -D-глюкопиранозиді ретінде анықталды [141].

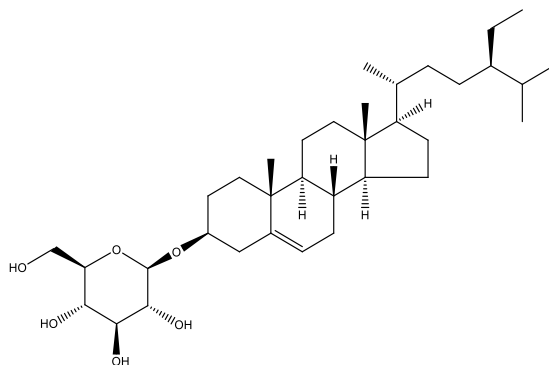


35 – Сурет. Стигмастерол құылымы (1-зат)

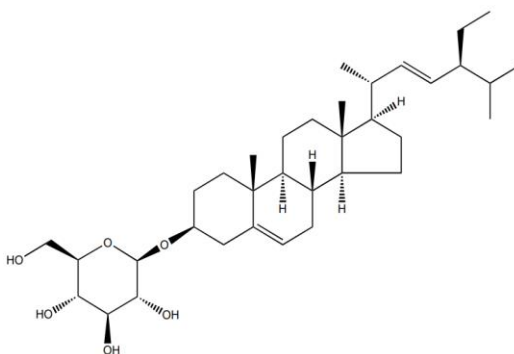


36 – Сурет.  $\beta$ -ситостерол құрылымы (6-зат)





37 – Сурет.  $\beta$ -ситостеролдың 3-О- $\beta$ -D-глюкопиранозидінің (8-зат) құрылымы

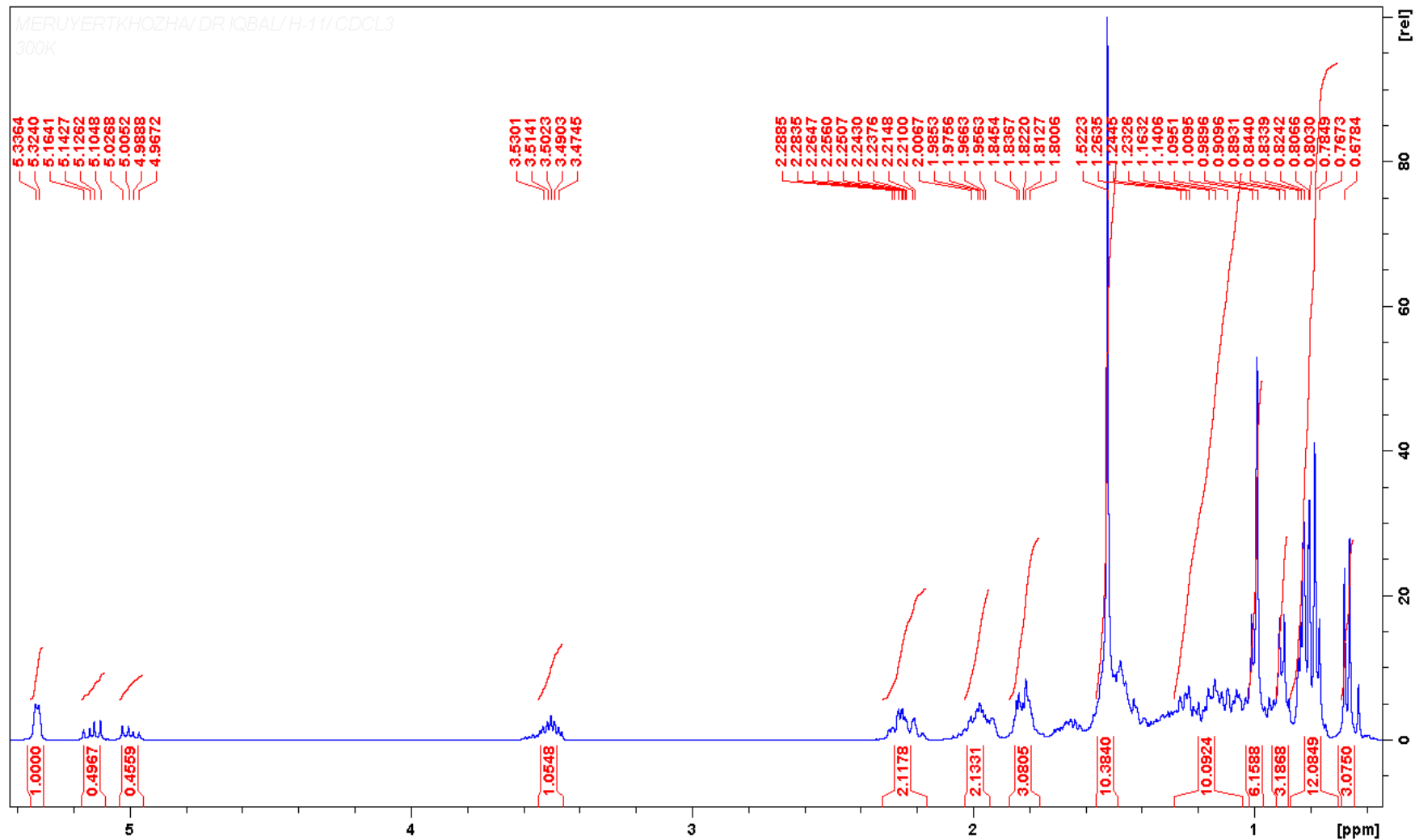


38 – Сурет. Стигмастеролдың 3-О- $\beta$ -D-глюкопиранозиді (4-зат) құрылымы

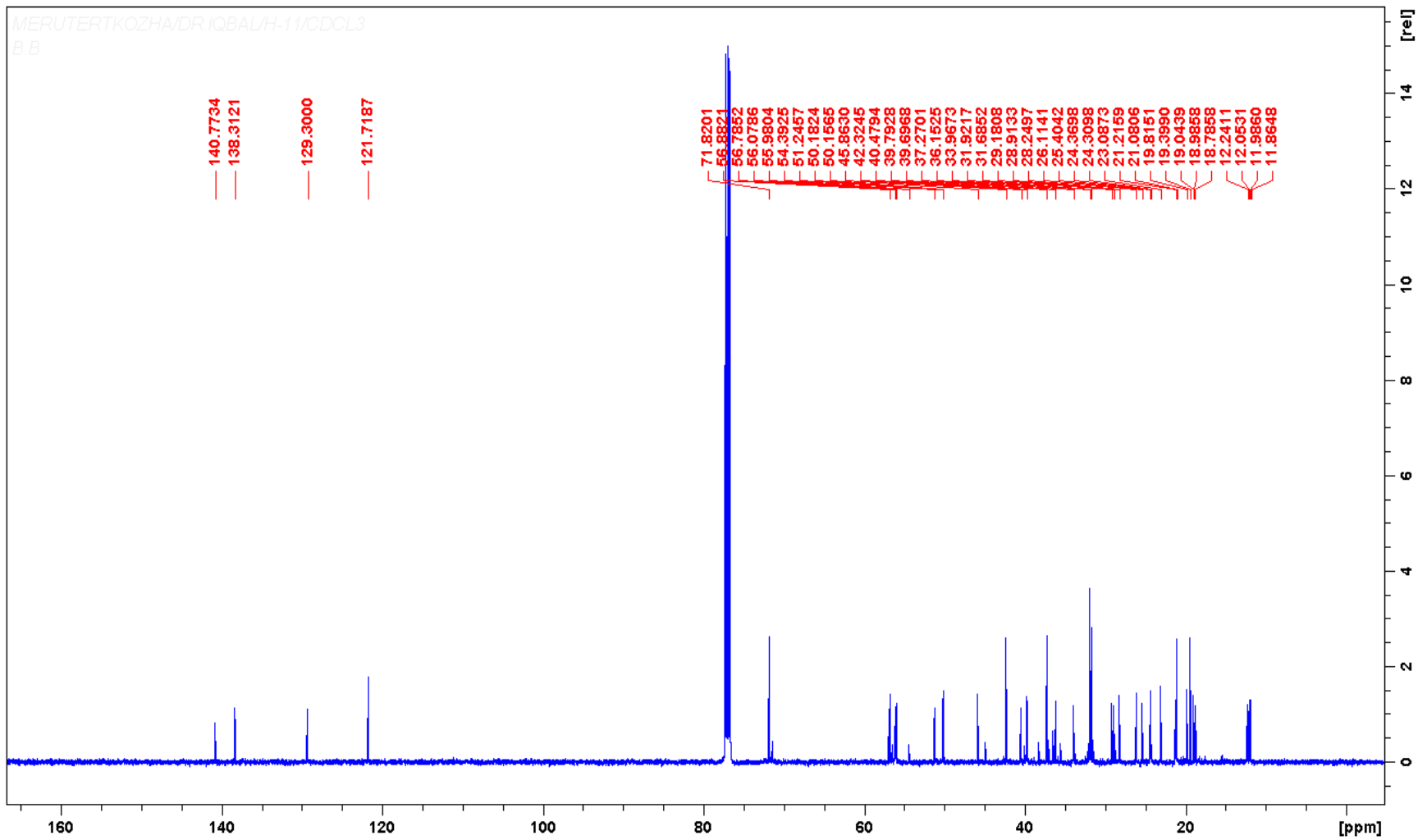
18 – Кесте. *Petrosimonia* өсімдігінен бөлінген стеролдардың физико-химиялық сипаттамалары

Қосылыс	Спектральды сипаттамасы
1	2
<p>Стигмастерол (1-зат)  <math>C_{29}H_{48}O</math>, ақ түсті кристал, балқу температурасы 161-163 °С.</p>	<p><b>EI-MS:</b> <math>m/z</math> 413 <math>[M+H]^+</math> <math>[C_{29}H_{48}O + H]^+</math> (оң иондық режим).  <b><math>^1H</math>-ЯМР (500 Гц, <math>CDCl_3</math>):</b> <math>\delta_H</math> 0.68 (3H, c, H-18), 0.77 (3H, d, <math>J_{27, 25} = 6.8</math> Гц, H-27), 0.78 (3H, c, H-29), 0.81 (3H, d, <math>J_{26, 25} = 6.8</math> Гц, H-26), 0.98 (c, H-19), 1.00 (3H, d, <math>J=6.5</math> Гц, H-21), 3.46 (1H, м, H-3), 4.98 (1H, дд, <math>J=15.5, 8.2</math> Гц, H-23), 5.11 (1H, дд, <math>J=15.5, 8.4</math> Гц, H-22), 5.32 (1H, м, H-6). <b><math>^{13}C</math>-ЯМР (125 Гц, <math>CDCl_3</math>):</b> <math>\delta_C</math> 39.2 (γ, C-1), 29.7 (γ, C-2), 79.7 (e, C-3), 40.3 (γ, C-4), 141.2 (e, C-5), 122.7 (д, C-6), 32.4 (γ, C-7), 32.6 (γ, C-8), 51.8 (γ, C-9), 37.5 (e, C-10), 21.6 (γ, C-11), 40.1 (γ, C-12), 42.7 (e, C-13), 57.7 (e, C-14), 25.9 (γ, C-15), 26.3 (γ, C-16), 56.7 (e, C-17), 12.1 (т, C-18), 19.3 (т, C-19), 36.7 (д, C-20), 19.1 (т, C-21), 138.9 (γ, C-22), 128.9 (γ, C-23), 46.6 (д, C-24), 29.7 (д, C-25), 20.1 (т, C-26), 19.6 (т, C-27), 23.6 (γ, C-28), 12.4 (т, C-29).</p>
<p>Эргостерол (4-зат)  <math>C_{28}H_{44}O</math>, ине тәрізді кристал, балқу</p>	<p><b>MS,</b> <math>m/z</math> 396 <math>[M+H]^+</math> <math>[C_{28}H_{44}O + H]^+</math> (оң иондық режим).  <b><math>^1H</math>-NMR(<math>CDCl_3</math>, 600MHz),</b> <math>\delta_H</math> 0.63 (3H, c, H-18), 0.95 (3H, c, H-9), 3.52-3.64 (1H, м, H-3), 5.08-5.29 (1H, м, H-22), 5.08-5.29 (1H, м, H-23), 5.34</p>

температурасы 163-165 °С	(1H, м, H-7), 5.54 (1H, дд, J= 5.4, 6.2 Гц, H-6); <sup>13</sup> C-NMR(CDCl <sub>3</sub> , 125MHz), δ <sub>C</sub> 141.3 (C-8), 139.7 (C-5), 135.4 (C-23), 132.1 (C-22), 119.3 (C-6), 116.1 (C-7), 70.4 (C-3), 55.7 (C-17), 54.3 (C-14), 46.2 (C-9), 42.8 (C-13), 42.8 (C-24), 40.1 (C-20), 39.1 (C-12), 38.3(C-1), 37.2 (C-10), 33.1 (C-4), 33.1 (C-25), 28.2 (C-16), 28.4 (C-2), 23.1 (C-15), 21.0 (C-11), 21.1 (C-27), 20.0 (C26), 19.7 (C-21), 17.1 (C-28), 16.2 (C-19), 12.1 (C-18).
В-ситостерол (6-зат) C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O, түссіз кристал, балқу температурасы 136 –140°С.	<b>EI-MS:</b> <i>m/z</i> 415 [M+H] <sup>+</sup> [C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O + H] <sup>+</sup> (оң иондық режим). <b><sup>1</sup>H-ЯМР (500 Гц, CDCl<sub>3</sub>):</b> δ <sub>H</sub> 3.52 (1H, м, H-3), 5.32 (1H, м, H-6), 0.68 (3H, с, H-18), 1.00 (3H, с, H-19), 0.91 (3H, д, J <sub>21, 20β</sub> = 6.5 Гц, H-21), 0.78 (3H, д, J <sub>26, 25</sub> = 6.8 Гц, H-26), 0.81(3H, д, J <sub>27, 25</sub> = 6.8 Гц, H-27), 0.82 (3H, қабаттасады, H-29). <b><sup>13</sup>C-ЯМР (125 Гц, CDCl<sub>3</sub>):</b> δ <sub>C</sub> 37.2 (γ, C-1), 31.7 (γ, C-2), 71.7 (d, C-3), 42.3 (γ, C-4), 140.7 (е, C-5), 121.7 (d, C-6), 31.8 (γ, C-7), 31.9 (d, C-8), 50.1 (d, C-9), 36.5 (е, C-10), 21.2 (γ, C-11), 39.8 (γ, C-12), 42.3 (е, C-13), 56.7 (е, C-14), 26.1 (γ, C-15), 24.3 (γ, C-16), 56.1 (d, C-17), 11.8 (т, C-18), 19.4 (т, C-19), 36.1 (d, C-20), 18.8 (т, C-21), 133.9 (γ, C-22), 128.2 (γ, C-23), 45.8 (d, C-24), 29.1 (d, C-25), 19.8 (т, C-26), 19.0 (q, C-27), 23.1 (γ, C-28), 12.0 (т, C-29).
Стигмастеролдың 3-О-β-D-глюкопиранозиді (5-зат) C <sub>35</sub> H <sub>58</sub> O <sub>6</sub> – ақ ұнтақ, балқу температурасы 288-289 °С.	<b>FAB-MS:</b> <i>m/z</i> 575 [M + H] <sup>+</sup> . <b><sup>1</sup>H-ЯМР (500 Гц, DMSO):</b> δ <sub>H</sub> 0.65 (3H, с, H-18), 0.72 (3H, д, J = 8.1, H-29), 0.81 (3H, д, J = 6.9, H-27), 0.84 (3H, д, J = 6.3, H-26), 0.91 (1H, бр.с, H-9), 0.93 (1H, бр.с, H-24), 0.97 (3H, д, J = 6.3, H-21), 1.07 (3H, с, H-19), 1.28 (2H, м, H-11), 1.08 (1H, м, H-14), 1.12 (2H, м, H-15), 1.30 (2H, м, H-2), 1.34 (1H, м, H-20), 1.36–1.13 (2H, м, H-1), 1.44 (2H, м, H-12), 1.46 (2H, м, H-7), 1.51 (1H, бр.с, H-8), 1.63 (1H, м, H-25), 1.77 (2H, м, H-16), 1.80 (2H, м, H-4), 2.99 (1H, м, H-2'), 3.07 (1H, м, H-5'), 3.08 (1H, м, H-4'), 3.20 (1H, м, H-3'), 3.37 (1H, м, H-3), 3.64–3.50 (1H, м, H-6'), 4.19 (1H, д, J = 7.8, H-1'), 4.83 (1H, дд, J = 8.4, 15, H-23), 4.96 (1H, дд, J = 8.4, 15.0, H-22), 5.15 (1H, бр.д, J = 4.8, H-6).
В-ситостеролдың 3-О-β-D-глюкопиранозиді (8-зат), ақ қиыршық қар тәрізді ұнтақ, балқу температурасы 276-278°С. C <sub>35</sub> H <sub>60</sub> O <sub>6</sub> .	<b>FAB-MS,</b> <i>m/z</i> 577 [M + H] <sup>+</sup> . ИҚ спектрі (KBr, ν <sub>max</sub> , cm <sup>-1</sup> ): 3400, 2939, 1635, 1463, 1368, 1167, 1074, 1024, 800. <b><sup>1</sup>H-ЯМР (500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N):</b> δ <sub>H</sub> 0.69 (3H, с, H-18), 0.88 (3H, с, H-26), 0.90 (3H, с, H-19), 0.92 (3H, бр.с, H-29), 0.96 (3H, бр.с, H-27), 0.98 (2H, м, H-11), 1.02 (3H, д, J = 6.7, H-21), 1.26 (1H, м, H-20), 1.41 (2H, дд, J = 10.9/5.3 Гц, H-15), 1.41 (2H, дд, J = 10.9/5.3 Гц, H-16), 1.44 (2H, м, H-7), 1.50 (1H, д, J = 12.0, H-8), 1.57 (2H, т, J = 13.9, H-22), 1.74 (2H, дт, J = 12.4/5.4 Гц, H-2), 1.89 (2H, д, J = 5.5, H-12), 2.50 (2H, т, J = 12.6, H-4), 3.62 (1H, м, H-3), 4.30 (1H, м, H-4'), 4.04–3.93 (1H, м, H-2'), 4.08 (1H, д, J = 7.9 Гц, H-5'), 4.58 (1H, м, H-3'), 4.43 (1H, дд, J = 11.9/5.3 Гц, H-6'), 5.07 (1H, д, J = 7.6, H-1'), 5.38 (1H, д, J = 5.0, H-6).



39 – Сурет.  $\beta$ -ситостеролдың  $^1\text{H}$  – спектрі (6-зат)



40 – Сурет.  $\beta$ -ситостеролдың  $^{13}\text{C}$  – спектрі (б-зат)

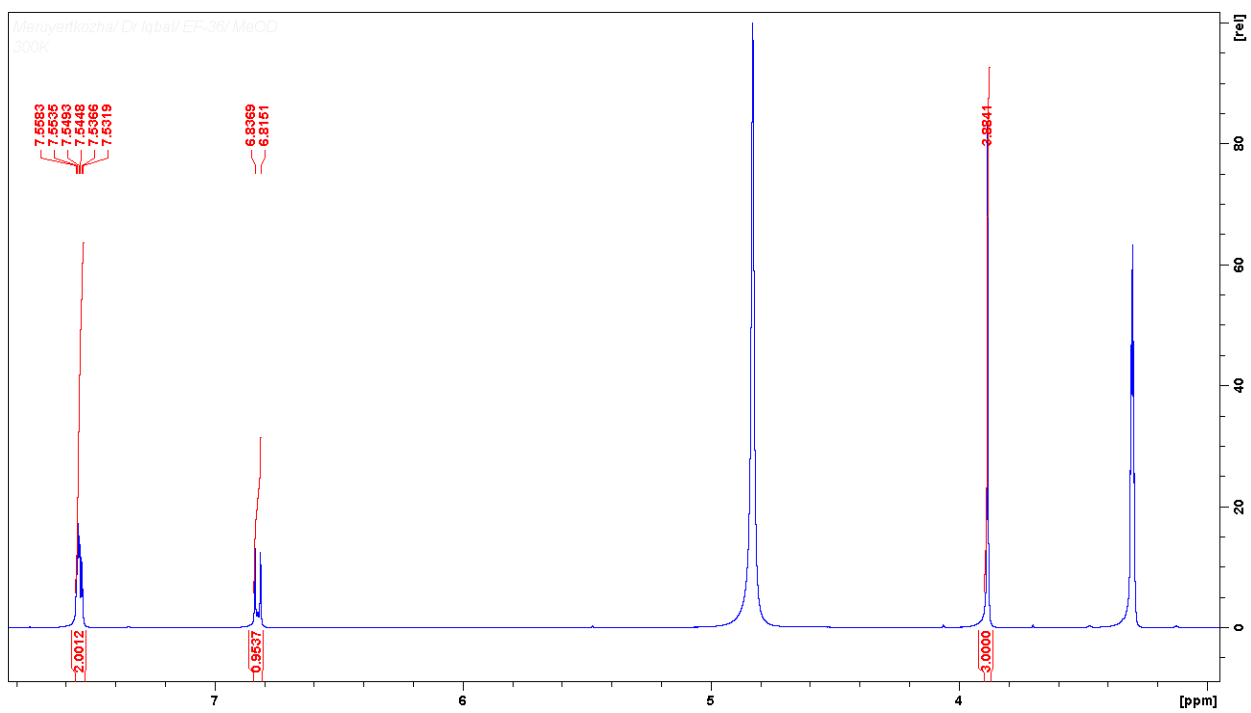


19 – Кесте. *Petrosimonia triandra* өсімдігінен бөлінген 9-, 10-заттың <sup>1</sup>H- және <sup>13</sup>C-ЯМР спектр мәліметтері (CD<sub>3</sub>OD)

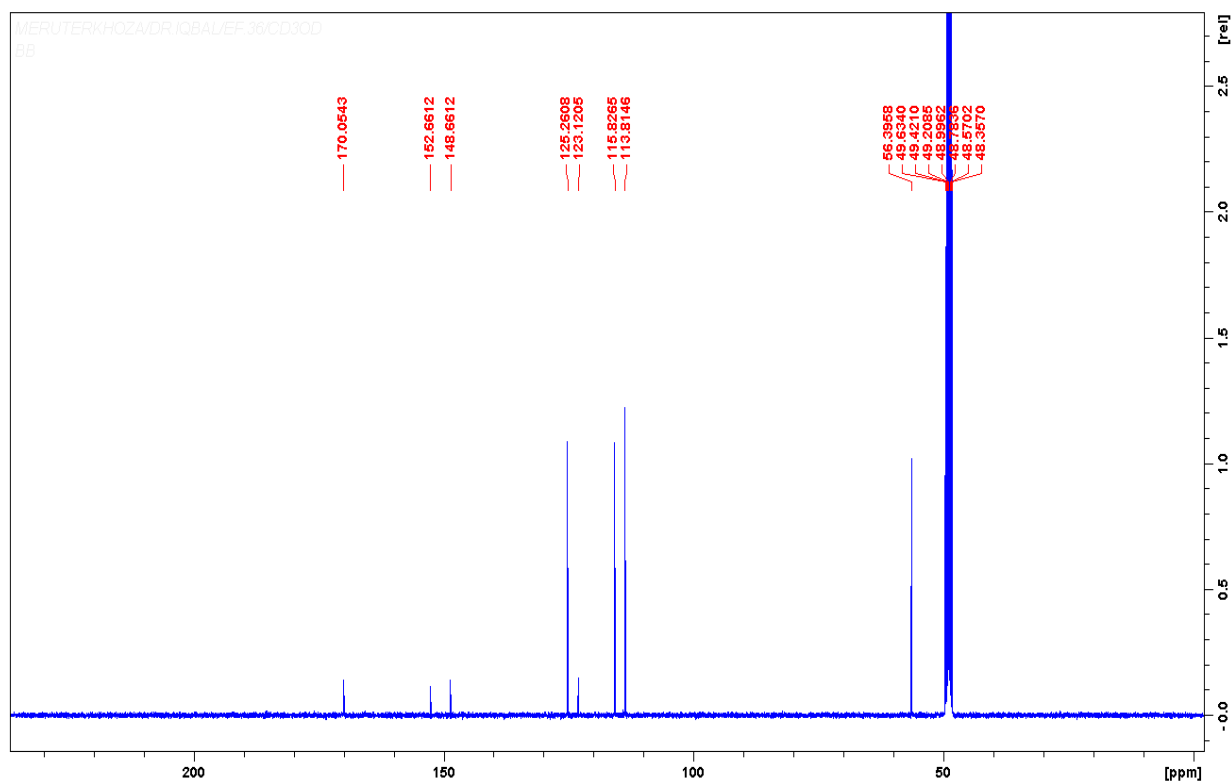
С	9-зат		10-зат	
	<sup>13</sup> C (δс)	<sup>1</sup> H [δ <sub>H</sub> (J <sub>HH</sub> , Гц)]	<sup>13</sup> C (δс)	<sup>1</sup> H [δ <sub>H</sub> (J <sub>HH</sub> , Гц)]
1	123.1	-	121.6	-
2	115.0	7.56 (1H, д, J=1.92)	112.7	7.61 (1H, д, J=1.90)
3	148.6	-	151.2	-
4	152.6	-	149.1	-
5	113.8	6.82 (1H, д, J=8.72)	115.0	6.86 (1H, д, J=8.92)
6	125.2	7.55 (1H, дд, J=7.06, J=1.8)	123.5	7.44 (1H, дд, J=7.12, J=1.9)
C=O	170.0	-	167.2	-
OCH <sub>3</sub>	56.4	3.88 (3H, с)	55.5	3.83 (3H, с)

Флавоноидтар – **7, 11-14** қосылыстары дихлорметан және этилацетат экстрактісінен жеке күйінде бөлінді. Бұл қосылыстарды сапалық сараптауда екі жүйелі ҚХ да (еріткіштер жүйесі I, II) сапалық айқындағыштар: концентрлі HCl дағы ванилиннің 1% ерітіндісі және ДзПНА+Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> өңдегенде қою сары түсті дақтарды көрсетті. Сонымен қатар 1% -ды AlCl<sub>3</sub>- тің спирттік ерітіндісі және аммиак буымен әсер еткенде ашық сары түсті дақтар пайда болды, бұл флавоноидты қосылыспен AlCl<sub>3</sub> кешен түзіетінін білдіреді. Сондай-ақ бұл қосылыстарға ЖҚХ да (еріткіштер жүйесі III, VIII) сапалық сараптау жасалды, айқындағыш ретінде 15% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> қолданылып, дақтар сары түске боялды. УК жарықта 366 нм толқында қара көк түсті дақтар көрінді.

7-зат – сары ұнтақ түрінде оқшауланды, балқу температурасы 303–305°C, масс спектрі EI-MS m/z. 316 [M]<sup>+</sup>, молекулалық формуласы C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub> –ге сәйкес келеді. ЯМР <sup>1</sup>H және <sup>13</sup>C нәтижелері (20– кесте) мен физикалық қасиеттеріне сүйене отырып, бұл қосылыс изорамнетин (3,5,7,4'-тетрагидрокси-3'-метоксифлавонон) ретінде тұжырымдалды [143].



42 – Сурет. Ванилин қышқылының  $^1\text{H}$ -ЯМР спектрі (9-зат)

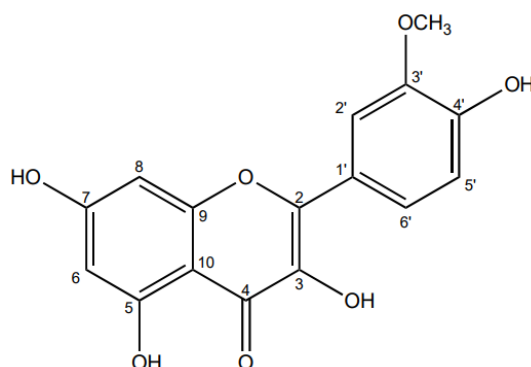


43 – Сурет. Ванилин қышқылының  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектрі (9-зат)



20 – Кесте. *Petrosimonia* өсімдігінен бөлінген 7-заттың <sup>1</sup>H- және <sup>13</sup>C-ЯМР спектр мәліметтері (CD<sub>3</sub>OD)

C	HSQC		HMBC
	<sup>1</sup> H [ $\delta_H$ ( $J_{HH}$ , Гц)]	<sup>13</sup> C ( $\delta_C$ )	
2	-	158.2	-
3	-	136.5	-
4	-	183.3	-
5	-	162.5	-
6	6.18 (1H, д, $J=2$ )	99.3	C-8, C-10
7	-	166.1	-
8	6.40 (1H, д, $J=2$ )	94.5	C-6, C-10, C-9
9	-	158.2	-
10	-	104.5	-
1'	-	121.8	-
2'	7.86 (1H, д, $J=1.65$ )	116.3	C-6', C-4'
3'	-	150.0	-
4'	-	149.7	-
5'	6.93 (1H, д, $J=8.4$ )	110.6	C-6', C-4', C-3'
6'	7.73 (1H, дд, $J=8.5, J=2$ )	122.8	C-5', C-2'
OCH <sub>3</sub>	3.93 (3H, с)	56.6	C-3'

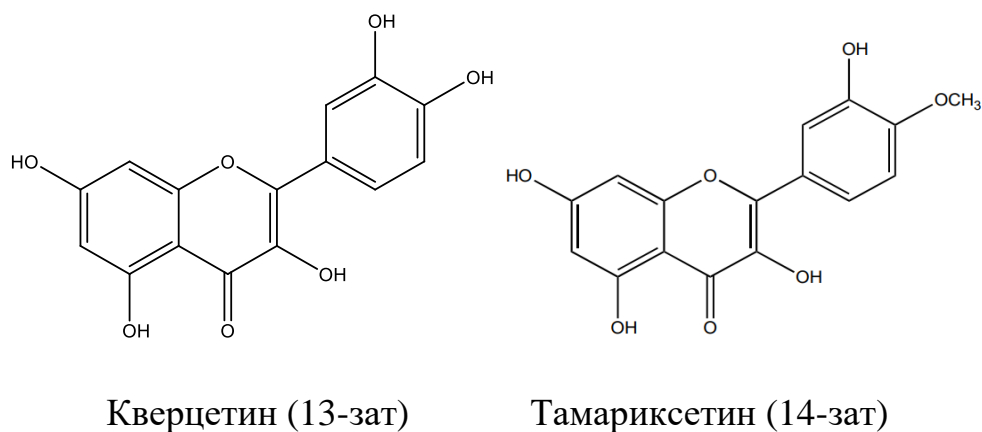
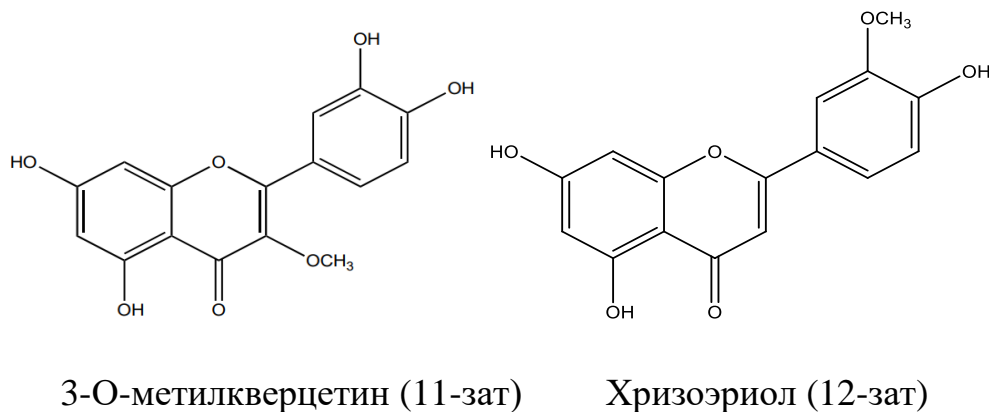


44 - Сурет. Изорамнетин (7-зат) құрылымы

**11-14** заттар – сары түсті ұнтақ түрінде бөлінді, балқу температуралары 314–315°C, 273–275°C, 314–315°C және 250–252°C болып, УК жарықта 366 нм де қара көк түсті дақ көрінді. Масс спектрлері EI-MS,  $m/z$  316 [M]<sup>+</sup>, EI-MS,  $m/z$  300 [M]<sup>+</sup>, EI-MS,  $m/z$  302 [M]<sup>+</sup> және EI-MS,  $m/z$  316 [M]<sup>+</sup> фрагменттері болып, келесі молекулалық формулаларына жауап береді: C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>, C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>, C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub> және C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>.

Эксперименттік нәтижелер мен әдебиет деректерін салыстыру арқылы бұл қосылыстар төмендегідей тұжырымдалды: 3-О-метилкверцетин (5,7,3',4'-тетрагидрокси-3-метокси флавон) (**11**-зат); хризоеариол (5,7,4'-тригидрокси-3'-

метоксифлавонон) (**12-зат**); кверцетин (3,5,7,3',4'-пентагидроксифлавонон) (**13-зат**) және тамариксетин (3,5,7,3'-тетрагидрокси-4'-метоксифлавонон) (**14-зат**) болып идентификацияланды. **11-14** заттарының ЯМР  $^1\text{H}$  және  $^{13}\text{C}$  нәтижелері 21 – және 22 – кестелерде көрсетілген.



45 – Сурет. 11-14 заттар құрылымдары

**19-21** заттар – балқу температуралары 243–245 °С, 218–220 °С және 184–186 °С сары түсті ұнтақтар болды және УК жарықта 254 нм-де қара дақтар түрінде көрінді. Екі жүйелі қағазды хроматография бұл заттардың гликозидті туындылардың сапалық көрсеткіштерін берді. Масс спектр мен ЯМР  $^1\text{H}$  және  $^{13}\text{C}$  нәтижелері бойынша **19-20** заттар моногликозид, ал **21-зат** дигликозид туындылары екенін айқындады.

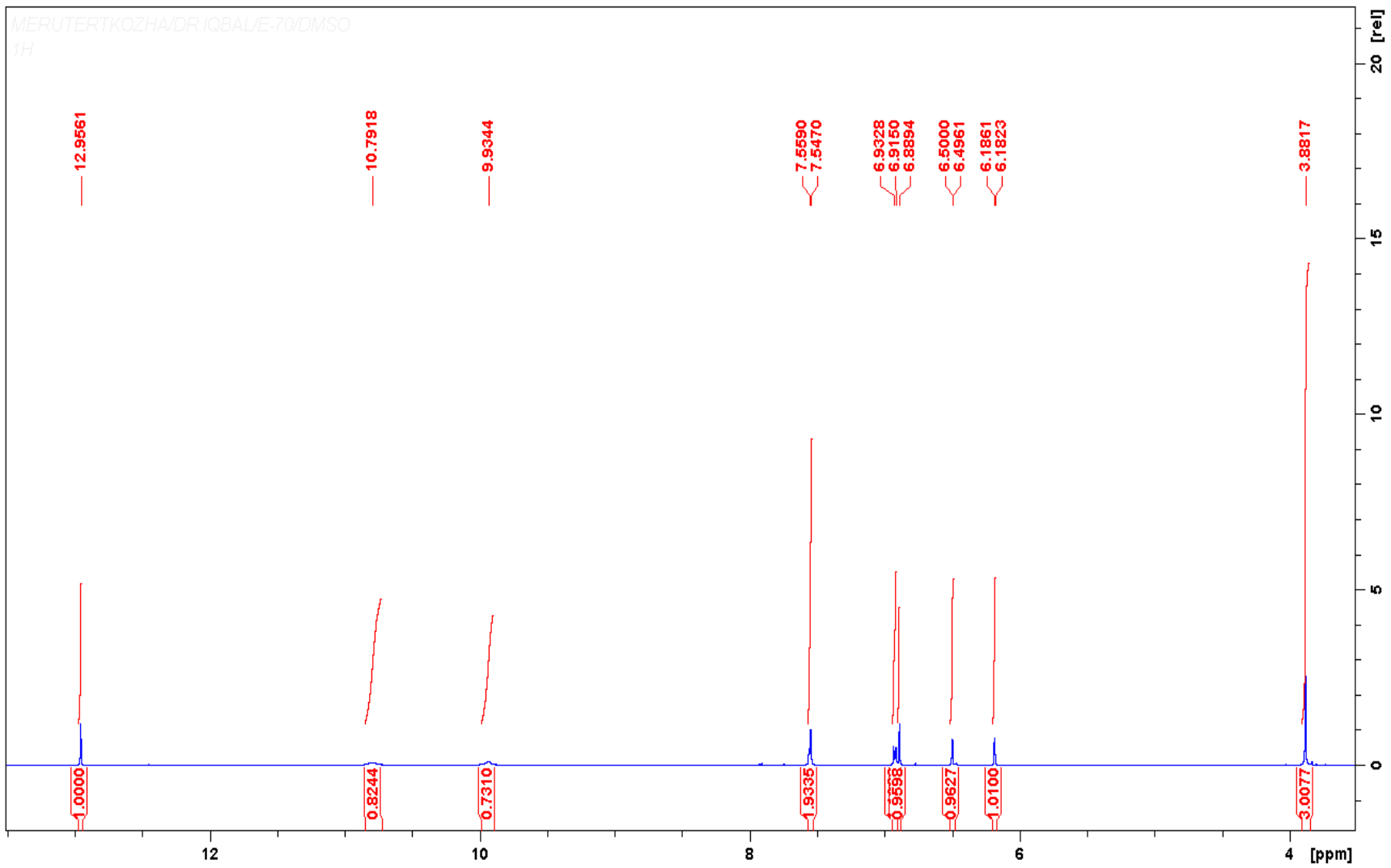
**19-21** заттардың молекулалық иондарының (ESI-MS,  $m/z$  479, 479, 625) қатары бойынша **19-затта** глюкоза  $[\text{M}-162]^-$ , **20-затта** галактоза  $[\text{M}-162]^-$  және **21-затта** глюкопиранозил 6→1 рамнопранозид  $[\text{M}-316]^-$  көмірсу фрагменттері анықталды.  $^1\text{H}$ - ЯМР спектрдегі химиялық ығысу нәтижелері **19-21** заттарда көмірсу қалдығының  $\beta$  – формада байланысқандығы белгілі болды.

21 – Кесте. *Petrosimonia* өсімдігінен бөлінген 11-, 12- заттың  $^1\text{H}$ -және  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектр мәліметтері

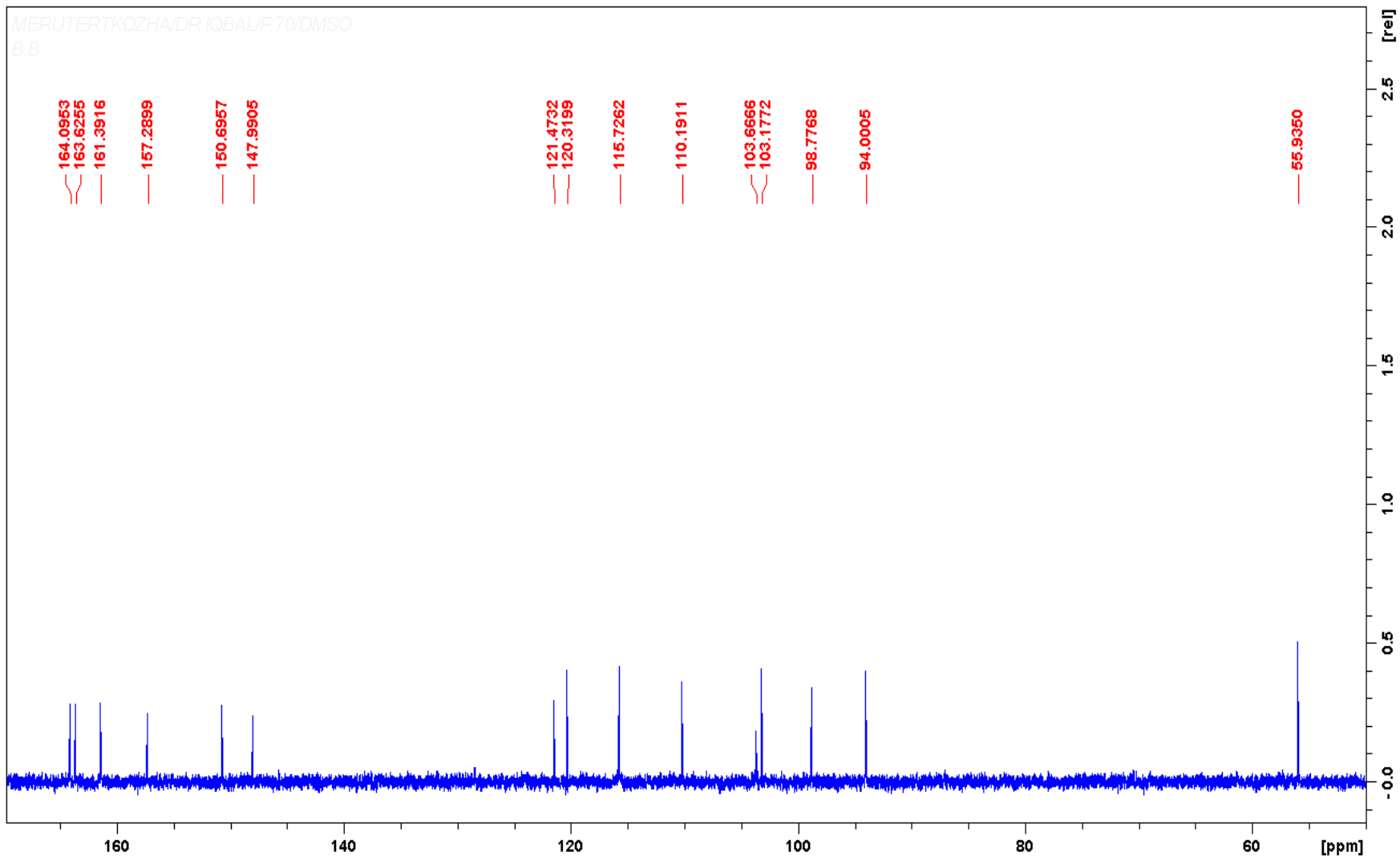
C	12- зат (DMSO)		11- зат ( $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$ )	
	$^{13}\text{C}$ ( $\delta_{\text{C}}$ )	$^1\text{H}$ [ $\delta_{\text{H}}$ ( $J_{\text{HH}}$ , Гц)]	$^{13}\text{C}$ ( $\delta_{\text{C}}$ )	$^1\text{H}$ [ $\delta_{\text{H}}$ ( $J_{\text{HH}}$ , Гц)]
2	164.1	-	154.9	-
3	103.6	6.89 (1H, c)	139.6	6.90 (1H, c)
4	181.7	-	178.2	-
5	161.3	-	161.8	-
6	98.7	6.50 (1H, д, $J=1.95$ )	98.3	6.26 (1H, д, $J=2.05$ )
7	163.6	-	166.4	-
8	94.0	6.19 (1H, д, $J=1.90$ )	94.0	6.54 (1H, д, $J=2.05$ )
9	157.2	-	158.3	-
10	103.1	-	104.5	-
1'	121.4	-	122.8	-
2'	110.1	7.55 (1H, д, $J=6$ )	116.0	7.89 (1H, д, $J=1.8$ )
3'	150.7	-	151.4	-
4'	147.9	-	145.9	-
5'	115.7	6.93 (1H, д, $J=8.9$ )	116.5	7.00 (1H, д, $J=8.5$ Hz)
6'	120.3	7.55 (1H, д, $J=6$ )	121.8	7.81 (1H, дд, $J=8.5, J=2.05$ )
OCH <sub>3</sub>	55.9	3.88 (3H, c)	56.7	3.873H, c)

22 – Кесте. *Petrosimonia* өсімдігінен бөлінген 13-, 14-заттың  $^1\text{H}$ - және  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектр мәліметтері ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )

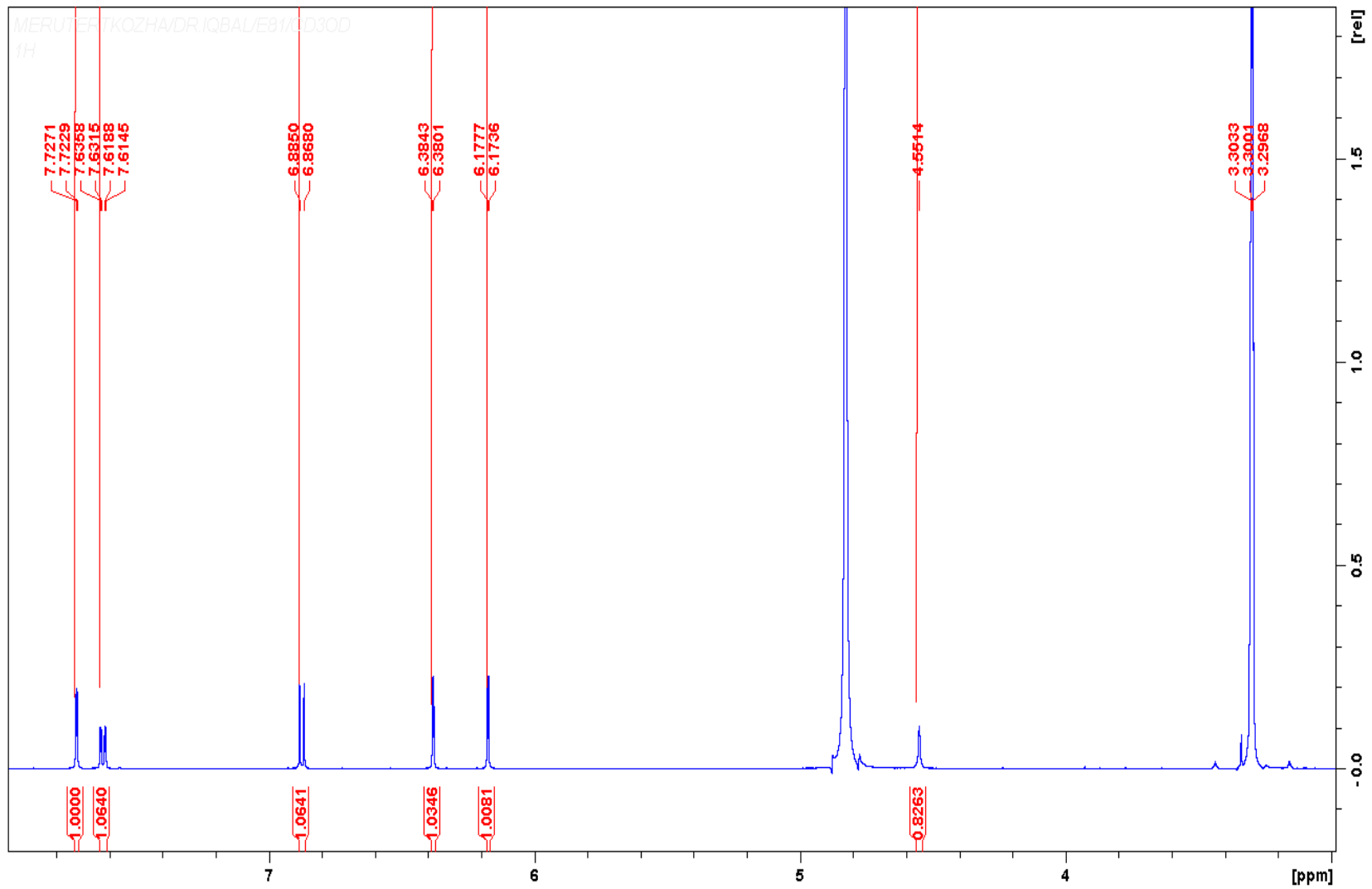
C	13- зат		14- зат	
	$^{13}\text{C}$ ( $\delta_{\text{C}}$ )	$^1\text{H}$ [ $\delta_{\text{H}}$ ( $J_{\text{HH}}$ , Гц)]	$^{13}\text{C}$ ( $\delta_{\text{C}}$ )	$^1\text{H}$ [ $\delta_{\text{H}}$ ( $J_{\text{HH}}$ , Гц)]
2	148.0	-	150.9	
3	137.1	-	138.4	
4	177.3	-	177.9	
5	162.5	-	162.9	
6	99.2	6.17(1H, д, $J=2.05$ )	99.4	6.75 (1H, c)
7	165.6	-	166.1	
8	94.4	6.38 (1H, д, $J=2.1$ Hz)	94.9	6.90(1H, c)
9	158.3	-	158.5	
10	104.5	-	104.7	
1'	124.1	-	123.3	
2'	116.0	7.72 (1H, д, $J=2.1$ Hz)	116.0	7.39 (1H, c)
3'	146.2	-	149.1	
4'	147.9	-	149.8	
5'	148.0	6.88 (1H, д, $J=8.5$ )	114.2	6.90 (1H, д, $J=8.4$ )
6'	116.2	7.63 (1H, дд, $J=8.5, J=2.15$ )	123.3	7.39 (1H, д, $J=8.4, J=2.15$ )
OCH <sub>3</sub>	-	-	56.5	3.88 (3H, c)



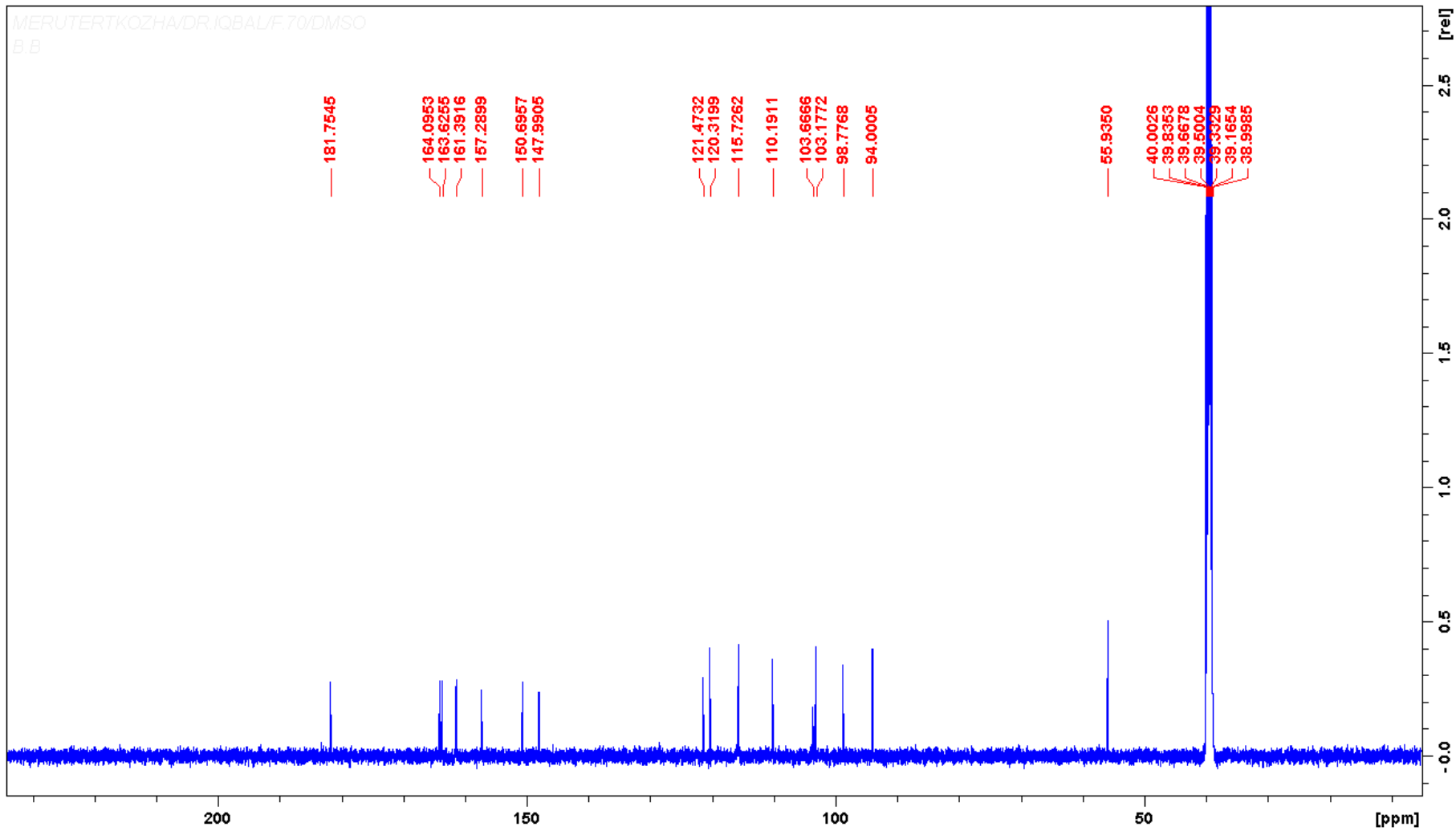
46 – Сурет. Хризоериолдың  $^1\text{H}$  – ЯМР спектрі (12-зат)



47 – Сурет. Хризоеариолдың  $^{13}\text{C}$  – ЯМР спектрі (12-зат)



48 – Сурет. Кверцетиннің  $^1\text{H}$  – ЯМР спектрі (13-зат)

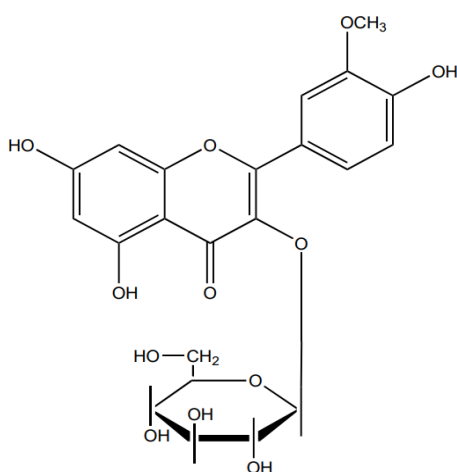


49 – Сурет. Кверцетиннің  $^{13}\text{C}$  – ЯМР спектрі (13-зат)



**19-заттың**  $^1\text{H}$ -ЯМР спектрінде метокси тобының үш протоны  $\delta_{\text{H}} = 3.94$  аймағында синглетті сигналды көрсетті. В сақинасының ароматты протондары 6.97 (1H, д,  $J=8.45$ , H-3') және 8.05 (1H, д,  $J=2$ , H-6') дублетті сигналдарды көрсетсе, ал 7.66 (1H, дд,  $J=8.5$ ,  $J=2.05$ , H-2') протоны дублет дублетті ығысу деңгейінде болды. Сондай-ақ, А сақинсының ароматты H-6 және H-8 протондарын сәйкесінше 6.28 (1H, т) және 6.53 (1H, т) триплетті сигналдың ығысуынан көре аламыз. Қант бөліктің аномерлі H-1'' протоны 5.42 (1H, д) химиялық ығысу аймағында дублетті сигналды берді.

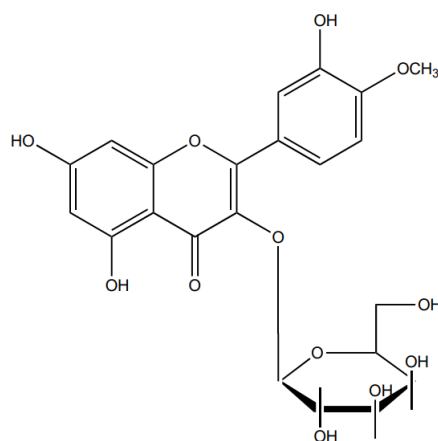
$^{13}\text{C}$ -ЯМР және НМВС спектрлер көмегімен қанытты бөліктің байланысу орыны анықталды. Физико-химиялық талдау нәтижелері мен әдебиет деректерін салыстыру арқылы **19-зат** Изорамнетиннің 3-О- $\beta$ -D-глюкопиранозиді  $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$  ретінде идентификацияланды [144].



50 – Сурет. Изорамнетиннің 3-О- $\beta$ -D-глюкопиранозидінің (19-зат) құрылымы

**20-зат** –  $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$ , сары кристалды қосылыс, балқу температурасы 218–220 °С. Молекулалық массасы ESI-MS,  $m/z$  479  $[\text{M}+\text{H}]^+$ . УК спектрі (MeOH,  $\lambda_{\text{max}}$ , nm): 348, 267; (+NaOAc): 354, 269; (+NaOAc+ $\text{H}_3\text{BO}_3$ ): 351, 267; (+NaOMe): 388, 272; (+ $\text{AlCl}_3$ ): 397, 269; (+ $\text{AlCl}_3/\text{HCl}$ ): 396, 275. ИҚ спектрі (KBr,  $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3420, 2945, 1670, 1520, 1460, 1080, 1060, 1020, 890.  $^1\text{H}$  ЯМР спектрі (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$ , ppm, J/Hz)  $\delta_{\text{H}}$ : 3.84 (3H, с, 4'-OCH<sub>3</sub>), 5.35 (1H, д,  $J = 7.8$ , H-1''), 6.20 (1H, д,  $J = 2.0$ , H-6), 6.43 (1H, д,  $J = 2.0$ , H-8), 6.92 (1H, д,  $J = 8.4$ , H-5'), 7.50 (1H, дд,  $J=8.4$ ,  $J = 2.0$ , H-6') және 7.93 (1H, д,  $J = 2.0$ , H-2').

**20-заттың** физико-химиялық зерттеу нәтижелері мен әдеби деректерге сүйене отырып, тамариксетиннің 3-О- $\beta$ -D-галактопиранозиді екені дәлелденді.



51 – Сурет: Тамариксетиннің 3-О-β-D-галактопиранозидінің (20-зат) құрылымы

**21**-заттың ESI-MS спектрінде  $[M+H]^+$  ионы  $m/z = 625$  ті көрсетті. Масс және  $^{13}\text{C}$ -ЯМР (23 – кесте) спектр нәтижелері бойынша болжанған молекулалық формуласы  $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$  - ге сәйкес келеді.

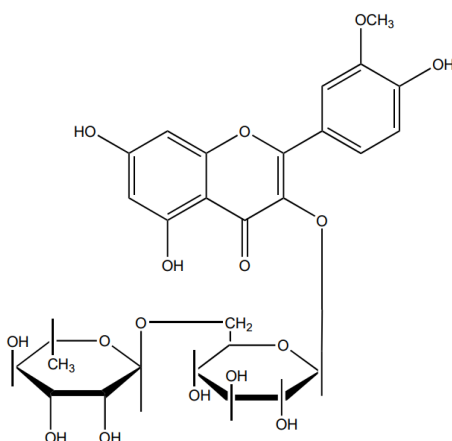
$^1\text{H}$ -ЯМР спектрінде  $\delta_{\text{H}} = 6.21$  (д,  $J = 2.0$  Гц, 1 Н) және  $\delta_{\text{H}} = 6.42$  (д,  $J = 2.0$  Гц, 1 Н) екі дублетті протондар HSQC де  $\delta_{\text{C}} = 99.96$  және  $94.90$  көміртек сигналдарымен корреляцияланғанын көрсетіп, бұл позициялар флавоноидты құрылымның А-сақинасында 5,7-дигидрокси алмастырылған С6 және С8-дегі екі протонды растады. Ал дублет дублетті  $\delta_{\text{H}} = 7.64$  (дд,  $J = 8.4, 2.0$  Гц) және 2 дублетті  $\delta_{\text{H}} = 6.92$  ( $J = 8.4$  Гц) мен  $7.94$  ( $J = 2.0$  Гц) протондары В сақинасының С6'-Н, С5'-Н және С2'-Н протондарына сәйкес келеді. Оған қоса,  $^1\text{H}$ -ЯМР спектріндегі  $\delta_{\text{H}} = 3.94$  (3Н, с) бір синглет, НМВС спектріндегі  $\delta_{\text{C}} = 147.8$  (С3') көміртегімен корреляцияны көрсеткен метокси тобының резонансын білдіреді. Сондай-ақ  $\delta_{\text{H}} = 5.24$  (д,  $J = 7.5$  Гц) және  $\delta_{\text{H}} = 4.55$  (д,  $J = 1.4$  Гц) дублеттері сәйкесінше глюкоза мен рамноза бөліктерінің аномерлік протондарына жатқызылды.

NOESY гомонуклеарлық корреляция спектрі ароматты сутегі атомы С2'-Н ( $\delta_{\text{H}} = 7.94$ ) мен метокси тобының сутегі атомдары С3' деңгейінде метокси тобына жақын жатады. Бұл корреляцияларды НМВС спектрінде метокси тобының ( $\delta_{\text{H}} = 3.94$ ) С3' ( $\delta_{\text{C}} = 147.8$ ) үш байланысты ұзақ аралық муфтасы (coupling) растады.

Бір және екі өлшемді  $^1\text{H}$  және  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектрлері және әдебиеттен табылған мәндермен салыстыру арқылы **21**-зат құрылымы изорамнетиннің-3-О-β-D-глюкопиранозил (6→1)-α-L-рамнопиранозиді екендігін дәлелдейді [145].

23 – Кесте. *Petrosimonia* өсімдігінен бөлінген 19-, 20-заттың  $^1\text{H}$ - және  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектр мәліметтері

С	19-зат ( $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$ )		20-зат (DMSO)	
	$^{13}\text{C}$ ( $\delta_{\text{C}}$ )	$^1\text{H}$ [ $\delta_{\text{H}}$ ( $J_{\text{HH}}$ , Гц)]	$^{13}\text{C}$ ( $\delta_{\text{C}}$ )	$^1\text{H}$ [ $\delta_{\text{H}}$ ( $J_{\text{HH}}$ , Гц)]
2	158.0	-	158.8	-
3	135.6	-	135.5	-
4	179.2	-	179.7	-
5	163.1	-	163.4	-
6	99.5	6.28(1H, т)	100.1	6.20 (1H, д, J=2.0)
7	165.2	-	166.6	-
8	94.6	6.53(1H, т)	94.8	6.43 (1H, д, J=2.0)
9	157.4	-	158.9	-
10	105.3	-	105.8	-
1'	122.8	-	123.3	-
2'	123.5	7.66 (1H, дд, J=8.5, J=2.05)	116.2	7.93 (1H, д, J=2.0)
3'	147.8	-	151.1	-
4'	150.3	-	148.6	-
5'	115.6	6.97 (1H, д, J=8.45)	114.6	6.92 (1H, д, J=8.4)
6'	114.4	8.05 (1H, д, J=2)	123.9	7.50 (1H, дд, J=8.4, J=2.0)
1''	104.3	5.42 (1H, д, J=7.3)	103.8	5.35 (1H, д, J=7.8)
2''	75.7	3.11 (1H, дд)	75.9	3.22 (1H, дд)
3''	78.1	3.50 (1H, т)	78.6	3.39 (1H, т)
4''	71.4	3.38 (1H, т)	71.5	3.36 (1H, т)
5''	77.9	3.33 (1H, ддд)	78.1	3.25 (1H, ддд)
6''	62.6	3.70 (1H, дд), 3.58 (1H, дд)	62.6	3.60 (1H, дд), 3.41 (1H, дд)
$\text{OCH}_3$	56.7	3.94 (3H, с)	56.8	3.84 (3H, с)



52 – Сурет: Изорамнетиннің-3-О-β-D глюкопиранозил (6→1)-α-L-рамнопиранозидінің (21-зат) құрылымы

24 – Кесте. *Petrosimonia* өсімдігінен бөлінген 21-заттың <sup>1</sup>H- және <sup>13</sup>C-ЯМР спектр мәліметтері (DMSO)

C	21-зат	
	<sup>13</sup> C (δ <sub>C</sub> )	<sup>1</sup> H [δ <sub>H</sub> (J <sub>HH</sub> , Γ <sub>Ц</sub> )]
2	158.9	-
3	135.6	-
4	179.4	-
5	163.1	-
6	99.5	6.21 (1H, т)
7	165.8	-
8	94.6	6.42 (1H, т)
9	158.2	-
10	105.3	-
1'	122.8	-
2'	115.0	7.94 (1H, дд, J=8.5, J=2.05)
3'	148.3	-
4'	150.86	-
5'	116.1	6.92 (1H, д, J=7.3)
6'	123.9	7.64 (1H, дд, J =8.4, 2.0)
1''	104.3	5.24 (1H, д, J=7.3)
2''	75.7	3.37-3.49 (1H, м)
3''	78.2	3.37-3.49 (1H, м)
4''	71.4	3.21-3.27 (1H, м)
5''	77.9	3.39-3.42 (1H, м)
6''	68.6	3.82 (1H, дд, J =11.3, J =1.5), 3.49 (1H, м)
1'''	102.5	4.55 (1H, д, J=1.4)
2'''	72.1	3.61 (1H, дд, J =3.4, J =1.6)
3'''	72.3	3.37-3.49 (1H, м)
4'''	73.8	3.21-3.27 (1H, м)
5'''	69.8	3.37-3.49 (1H, м)
6'''	17.9	1.15 (3H, д, J =6.2)
OCH <sub>3</sub>	56.7	3.94(3H, с)

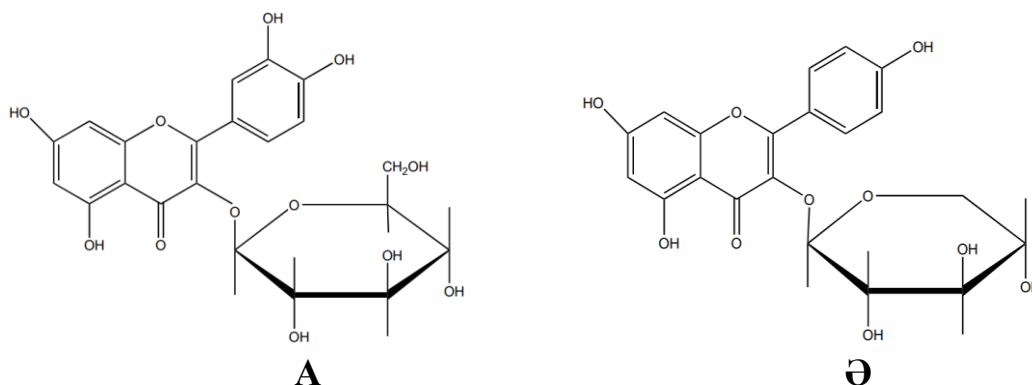
**23-зат** - сары кристалдар түрінде бөлінді, балқу температурасы 230-232 °С, ультра күлгін жарықта сұр түсті дақ көрінді. ИҚ спектрі (KBr, ν<sub>max</sub>, см<sup>-1</sup>): 3350-3256, 1645, 1115-1061. УК спектрі (MeOH, γ<sub>max</sub>, nm): 362, 264. Қосылыстың екі жүйелі қағаз хроматограммасындағы позициясы (*n*-бутанол:сірке қышқылы:су 40:12,5:29, 6%-сірке қышқылы) оның гликозидтік қасиетін көрсетеді. Қосылыстың қышқылдық гидролиз өнімдеріне сәйкес агликон мен көмірсу қалдығы оқшауланды. Өнімдерге қағазды хроматография көмегімен көмірсу үлгілерін пайдалана отырып, сапалық талдау жасалынып, о-толуидин айқындағышымен өңдегенде гидролизатта глюкоза анықталды.

Қосылыстың агликон бөлігін сілтілік ыдырату нәтижесінде А сақинасының С-5 және С-7 позицияларында бос гидроксил топтары бар

флороглюоциннің құрлымына ие екенін көрсетсе, ал В сақинасы протокатех қышқылы ретінде анықталды.

**23-заттың**  $^1\text{H}$ -ЯМР спектроскопиясының деректерінен көмірсудың қалдығы  $\beta$ -формада екені белгілі болды. Қант бөлігінің қосылу орны  $^{13}\text{C}$ -ЯМР және НМВС екі өлшемді спектрлері арқылы тұжырымдалды. Қазіргі заманғы спектрлік талдау әдістері мен әдебиет деректерін салыстыру нәтижесінде **23-зат** молекулалық массасы  $m/z$  464  $[\text{M}]^+$ ,  $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$  формуласына сәйкес келетін кверцетиннің 3-О- $\beta$ -D-глюкопиранозиді (**а**) екені дәлелденді [146].

**24-зат** – сары ұнтақ, балқу температурасы 224–225 °С, молекулалық массасы ESI-MS,  $m/z$  418  $[\text{M}]^+$ . УК спектрі (MeOH,  $\gamma_{\text{max}}$ , nm): 262, 360. ИҚ спектрі (KBr,  $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3358–3304, 2852, 2922, 1649, 1058–1022. Қосылыстың  $^1\text{H}$ -ЯМР және  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектр нәтижелері мен әдебиетте келтірілген деректерді салыстыру арқылы **24-зат** молекулалық массасы  $m/z$  418  $[\text{M}]^+$ ,  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$  формуласына сәйкес келетін кемпферолдың 3-О- $\beta$ -D-ксилопиранозиді (**б**) болып идентификацияланды [147].



53 – Сурет. Кверцетиннің 3-О- $\beta$ -D-глюкопиранозиді (**а**) және кемпферолдың 3-О- $\beta$ -D-ксилопиранозидінің (**б**) құрылымдары

25 – Кесте. *Petrosimonia* өсімдігінен бөлінген 23-, 24-заттардың  $^1\text{H}$ - және  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектр мәліметтері ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ).

С	<b>23-зат</b>		<b>24-зат</b>	
	$^{13}\text{C}$ ( $\delta_{\text{C}}$ )	$^1\text{H}$ [ $\delta_{\text{H}}$ ( $J_{\text{HH}}$ , Гц)]	$^{13}\text{C}$ ( $\delta_{\text{C}}$ )	$^1\text{H}$ [ $\delta_{\text{H}}$ ( $J_{\text{HH}}$ , Гц)]
2	148.0	-	158.5	-
3	137.1	-	135.3	-
4	177.2	-	179.4	-
5	162.5	-	163.1	-
6	99.2	6.45(1H, д, $J=2.0$ )	100.0	6.18 (1H, д, $J=2.0$ )
7	165.6	-	166.3	-
8	94.9	6.64(1H, д, $J=2.0$ )	94.8	6.41 (1H, д, $J=2.0$ )
9	158.4	-	158.9	-
10	104.3	-	105.6	-

1'	124.4	-	122.7	-
2'	116.5	7.68 (1H, д, J=2.0)	132.2	8.04 (1H, д, J=8.0)
3'	146.5	-	116.2	6.96 (1H, д, J=8.0)
4'	147.9	-	161.7	-
5'	148.2	7.30 (1H, д, J=8.0)	116.2	6.96 (1H, д, J=8.0)
6'	116.4	7.61 (1H, д, J=2.0)	132.2	8.04 (1H, д, J=8.0)
1"	104.3	5.54 (1H, д, J=8.0)	104.6	5.35 (1H, д, J=7.6)
2"	75.7	3.11 (1H, dd)	75.3	3.41 (1H, м)
3"	78.1	3.50 (1H, м)	77.5	3.33 (1H, м)
4"	71.4	3.38 (1H, м)	71.0	3.41 (1H, м)
5"	77.9	3.33 (1H, м)	67.2	3.69 (1H, dd, J=11.6, 5.4 H-5''a), 3.03 (, dd, J = 11.6, 9.6 H-5''b).
6"	62.6	3.70 (1H, dd, H-6''a), 3.58 (1H, dd, H-6''b)	-	-

### 3.3.4 Алкалоидтарды идентификациялау

**15-18** – заттар ақ түсті аморфты ұнтақтар түрінде бөлінді, бұл қосылыстарды жұқа қабатты хроматографияда (VII- еріткіштер жүйесі) Драгендорф айқындағышымен әсер еткенде қызыл сары түсті дақтар пайда болды. Бұл дақтар қосылыстың құрылымдық молекуласында азот атомы бар екенін білдіреді, яғни алкалоидтарға тән сапалық көрсеткіштер болып табылады.

Жаңа **15**-зат ақ аморфты ұнтақ түрінде оқшауланды. HR-EI-MS кезінде  $M^+$   $m/z$  343.1404,  $C_{19}H_{21}NO_5$  формуласына сәйкес (343.1420 есептелген), қанықпаудың он дәрежесімен белгілі болды. Қосылыстың ультракүлгін (УК) спектрі 288 (2.891), 245 (2.453) және 232 (2.343) нм-де жұтылуды көрсетіп, бұл конъюгаттық ароматты жүйенің болуын білдіреді.

ИҚ спектрінде кең жұтылу жолағы  $3346\text{ см}^{-1}$  гидроксид топтарды (ОН),  $2932\text{ см}^{-1}$  жұтылу жолағы  $\text{CH}_2$  тобының СН иілісі үшін  $1460\text{ см}^{-1}$  жұтылу жолағымен күшейтілген алифатты құрылымның С-Н байланысын көрсетеді. Күшті және өткір жұтылу жолағы  $1655\text{ см}^{-1}$  карбонил амид (C=O амид),  $1595\text{ см}^{-1}$  және  $1514\text{ см}^{-1}$  жұтылу жолақтары қосылыстың қанықпаған топтары (ароматты және олефинді C=C) бер екенін білдіреді.  $1261\text{ см}^{-1}$  де көміртек-оттек байланысы (C-O спирттік) кезінде күшті жұтылуды анықтайды. Сонымен қатар  $838\text{ см}^{-1}$  жұтылу жолағы ароматты топтардағы *para* -орынбасуды аңғартады және  $977\text{ см}^{-1}$  жұтылу жолағы олефиндердің *trans* -орын басқанын білдіреді.

**15**-заттың  $^1\text{H}$ -ЯМР спектрінде жеті ароматты, екі олефинді, екі метиленді, бір метинді және алты метокси протонның бар екенін көрсететін ығысу жолақтары болды. Төменгі өріс сигналдары екі және үш орынбасқан ароматты сақиналардың бар екенін білдіреді, химиялық ығысулар  $\delta$ : 7.47 (1H, д,  $J = 15.7$

Гц, Н-7), 7.22 (2Н, д,  $J = 8.5$  Гц, Н-2' және Н-6'), 7.15 (1Н, д,  $J = 1.9$  Гц, Н-2), 7.12 (1Н, дд,  $J = 8.3$  Гц,  $J = 1.9$  Гц, Н-6), 6.96 (1Н, д,  $J = 8.3$  Гц, Н-5), 6.77 (2Н, д,  $J = 8.6$  Гц, Н-3' және Н-5'), 6.51 (1Н, д,  $J = 15.7$  Гц, Н-8), 4.72 (1Н, дд,  $J = 8.3$  Гц,  $J = 1.9$  Гц, Н-7'), 3.85 (3Н, s, Н-МеО), 3.84 (3Н, s, Н-МеО), 3.54 (1Н, дд,  $J = 13.6$  Гц,  $J = 4.9$  Гц, Н<sub>a</sub>-8'), 3.45 (1Н, дд,  $J = 13.6$  Гц,  $J = 7.9$  Гц, Н<sub>b</sub>-8') сигналдарын көрсетті.

**15-загтың** <sup>13</sup>С-ЯМР спектрлері (ВВ және DEPT), 1 метилен (СН<sub>2</sub>), 10 метин (СН), 2 метокси (ОСН<sub>3</sub>) және 6 төртіншілік көміртек атомы бар жалпы 19 көміртек үшін химиялық ығысуларын айқындады. Химиялық ығысу сигналы δ<sub>с</sub> 169.3 (С-9) деңгейінде амидті аймақтағы С=О тобын, ал δ<sub>с</sub> 141.8 (С-7) және 119.6 (С-8) сигналдары молекулада олефинді көміртектердің бар екені белгілі болды. Химиялық ығысу сигналдары δ<sub>с</sub> 48.2 (С-8') метиленді көміртек және δ<sub>с</sub> 73.4 (С-7') метинді көміртек атомын анықтайды. Ығысу сигналдары δ<sub>с</sub> 158.1 (С-4'), 152.2 (С-3), 150.7 (С-4), 134.7 (С-1'), 129.4 (С-1), 128.5 (С-2', С-6'), 123.3 (С-6), 116.1 (С-3', С-5'), 112.8 (С-5), 111.4 (С-2) деңгейлерінде жеті метин тобынан тұратын бес төртіншілік көміртек бар екі ароматты сақинаның болуын аңғартады.

HSQC спектрінде ароматты протондар мен көміртектер δ<sub>н</sub> 7.15 (1Н, д,  $J = 1.9$  Гц, С-2) / δ<sub>с</sub> 111.4, δ<sub>н</sub> 6.95 (1Н, д,  $J = 8.5$  Гц, С-5) / δ<sub>с</sub> 112.8 және δ<sub>н</sub> 7.12 (1Н, дд,  $J = 8.3$  Гц,  $J = 1.9$  Гц, С-6) / δ<sub>с</sub> 123.3 сигналдары ароматты сақинаға тән триплеттер болады. Екі ароматты симметриялы сигналдар δ<sub>н</sub> 7.22 (2Н, С-2', С-6') және δ<sub>н</sub> 6.77 (2Н, С-3', С-5') жинағы кезінде орто-байланысқан протондардың бар екенін көрсетеді. Екі қос дублеттер δ<sub>н</sub> 3.54 (дд,  $J = 13.6$  Гц,  $J = 4.9$  Гц) және 3.45 (дд,  $J = 13.6$  Гц,  $J = 7.9$  Гц) сигналдары Н-7' (δ 4.72,  $J = 7.8$  Гц,  $J = 4.9$  Гц) протонымен вицинальды байланыстарды беретін С-8'-ге тағайындалды. Н-7' (δ 4.72) протонының қос дублеті ( $J = 7.8$  Гц,  $J = 4.9$  Гц) геминалды ОН тобының болуын түсіндіреді.

НМВС спектрінде Н-2 және Н-6 протондары С-1 (δ<sub>с</sub> 129.4) мен корреляция жасады. ОСН<sub>3</sub> топтары δ<sub>н</sub> 3.84 (3Н, s) және 3.85 (3Н, s) сәйкесінше С-3 (δ<sub>с</sub> 152.2) және С-4 (δ<sub>с</sub> 150.7) көрсеткіштерімен <sup>3</sup>J корреляциясын көрсетті. Төмен өріс дублеттері δ<sub>н</sub> 7.47 (С-7) және δ<sub>н</sub> 6.51 (С-8) ( $J = 15.7$  Гц) кезінде (Е)-конфигурациясы бар С=С байланысының бар екенін аңғартты.

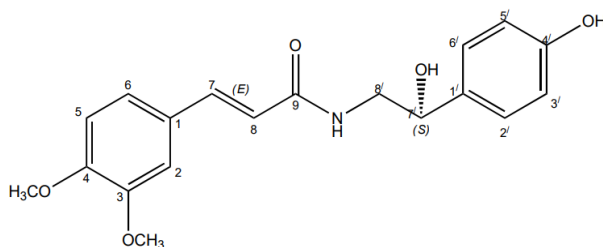
НМВС спектрі δ<sub>н</sub> 3.53, 3.45 (С-8') протондары С-9 (δ 169.3), С-1' (δ 134.4) және С-7' (δ 73.4)-мен ұзақ қашықтыққа байланысуын (coupling) көрсетсе, ал гидроксипропан тобындағы сутегі, амид тобы С=О және А сақинасының (С-1') - мен байланысқан. Н-7' протоны С-8' (48.2) және С-6' (128.5) көміртектерімен корреляция жасайды. Н-8 (δ 6.51) протоны С-1 (δ<sub>с</sub> 129.4) және С-9 (δ<sub>с</sub> 169.3) корреляцияда тұрғаны анықталды. Сол сияқты, Н-7 (δ 7.47) протоны С-1 (δ 129.4), С-8 (δ 119.6), С-9 (δ 169.3), С-2 (δ 111.4) және С-6 (δ 123.3) көміртектерімен корреляцияда болды. Осылайша амидтік карбонил тобының (С-9) көміртегі атомы А (С-1') сақинасымен байланыстыратын С=С бар екенін



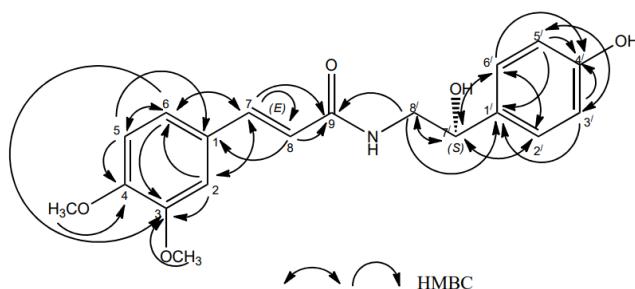
білдіреді. Н-2' ( $\delta$  7.22) протоны С-6' ( $\delta$  128.5), С-7' ( $\delta$  73.4) және С-4' ( $\delta$  158.1) көміртегімен корреляция жасайды, ал Н-5' ( $\delta$  6.77) протоны С-3' ( $\delta$  116.1), С-4' ( $\delta$  158.1) және С-1' ( $\delta$  134.7) көміртегімен корреляцияланып, гидроксил тобының А сақинасында алмастырылғанын анықтайды. Химиялық ығысу  $\delta$  7.15 (Н-2) протоны С-6 ( $\delta$  123.3), С-7 ( $\delta$  141.8), С-3 ( $\delta$  152.2) және С-4 ( $\delta$  150.7) көміртегімен корреляцияланады. Сонымен қатар,  $\delta_{\text{H}}$  7.12 (С-6) протоны С-5 ( $\delta$  112.8), С-2 ( $\delta$  111.4), С-7 ( $\delta$  141.8) және С-3 ( $\delta$  152.2) көміртегімен корреляцияланып, метокси топтары В сақинасында орынбасқанын айқындайды.

**15-заттың** COSY-45<sup>0</sup> спектрі де сәйкесінше  $\delta_{\text{H}}$  7.47 және 6.51 резонанс жасайтын Н-7 және Н-8 олефиндік протондар арасындағы байланысты көрсетеді. Осыған ұқсас Н-5 ( $\delta_{\text{H}}$  6.96) және Н-6 ( $\Delta_{\text{H}}$  7.12), сондай-ақ Н-2'/Н-6' ( $\delta$  7.22) және Н-3'/Н-5' ( $\delta$  6.77) арасындағы корреляция COSY-45<sup>0</sup> спектрінде байқалды.

Қосылыстың оптикалық айналуы (-)-(S)-конфигурациясы үшін С-7'-де -42<sup>0</sup> болды. Осы спектроскопиялық зерттеулер негізінде **15-зат** N-[(2S)-2-(4-гидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-метоксифенил)-(2E)-проп-2-энамид деген қорытындыға келдік (C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>O<sub>5</sub>N, HR-EI-MS=343.1420).



54 – Сурет. N-[(2S)-2-(4-гидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-метоксифенил)-(2E)-проп-2-энамид (15-зат) құрылымы



55 – Сурет. N-[(2S)-2-(4-гидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-метоксифенил)-(2E)-проп-2-энамидтің (15-зат) НМВС корреляциясы

**16-зат** – ақ түсті аморфты ұнтақ түрінде бөлінді, балқу температурасы 155–159 °С, оптикалық айналуы  $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = -25^{\circ}$  (с=0.1 мг/мл, MeOH), молекулалық массасы FAB-MS,  $m/z=330.1$   $[M+H]^+$  болып, C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub> формуласына сәйкес келеді. Физико-химиялық талдау және ЯМР <sup>1</sup>H және <sup>13</sup>C нәтижелері (26 – кесте)

мен әдеби деректерді салыстырып талдау арқылы **16-зат** N-цис-ферулоилоктопамин болып идентификацияланды [148].

**17-зат** – ақ түсті аморфты ұнтақ болып оқшауланды, балқу температурасы 164–166°C, оптикалық айналуы  $[\alpha]_D^{21} = -35^\circ$  (c=0.1 мг/мл, MeOH), молекулалық массасы FAB-MS,  $m/z$  330.1  $[M+H]^+$  болып,  $C_{18}H_{19}NO_5$  молекулалық формуласына сәйкес келеді. Физико-химиялық талдау және ЯМР  $^1H$  және  $^{13}C$  нәтижелері (26 – кесте) мен әдеби деректерді салыстырып талдау арқылы **17-зат** N-транс-ферулоилоктопамин болып идентификацияланды [149].

Екі өлшемді,  $^1H$  және  $^{13}C$  ЯМР спектроскопиялық әдістер **16-** және **17-** қосылыстарды сәйкесінше cis және транс-ферулоилоктопамин геометриялық изомерлер ретінде сипаттау үшін қолданылды.

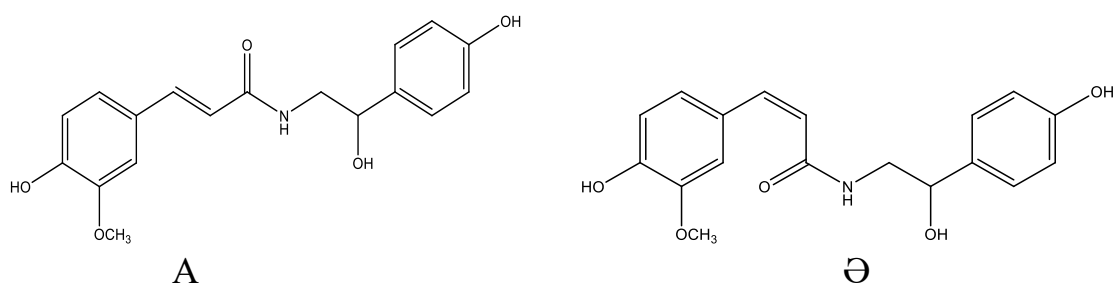
26 – Кесте. *Petrosimonia* өсімдігінен бөлінген 15-, 18- заттың  $^1H$ - және  $^{13}C$ -ЯМР спектр мәліметтері (CD<sub>3</sub>OD)

C	15-зат		18-зат	
	$^{13}C$ (δс)	$^1H$ [δ <sub>H</sub> (J <sub>HH</sub> , Гц)]	$^{13}C$ (δс)	$^1H$ [δ <sub>H</sub> (J <sub>HH</sub> , Гц)]
1	129.4	-	128.2	-
2	111.4	7.15 (д, J=1.8)	110.9	7.12 (д, J=1.9)
3	152.9	-	149.1	-
4	150.7	-	147.5	-
5	112.7	6.96 (д, J=8.3)	114.9	6.80 (д, J=9.2)
6	123.3	7.13 (дд, J=8.3/1.8)	119.1	7.03 (дд, J=8.3/1.9)
7	141.8	7.47 (д, J=15.7)	142.2	7.46 (д, J=15.7)
8	119.6	6.51 (д, J=15.7)	118.6	6.47 (д, J=15.6)
9	169.3	-	169.5	-
1'	134.7	-	133.5	-
2'	128.4	7.22 (д, J=8.4)	111.5	6.99 (д, J=8.5)
3'	116.1	6.77 (д, J=8.6)	149.9	-
4'	158.1	-	149.3	-
5'	116.1	6.77 (д, J= 8.6)	116.4	6.77 (д, J=8.6)
6'	128.4	7.22 (д, J=8.4)	123.2	6.83 (дд, J=8.5)
7'	73.4	4.73 (дд, J=7.7/4.9)	73.6	4.74 (дд, J=7.9/4.9)
8'	48.5	3.55 (дд, J=13.6/4.9), 3.46 (дд, J=13.6/7.8)	48.3	3.56 (дд, J=13.6/4.9) 3.44 (дд, J=13.6/7.9)
OCH <sub>3</sub>	56.48 56.44	3.85 (3H, с); 3.84 (3H, с)	3.90 (3H, с); 3.85 (3H, с)	3.88 (3H, с); 3.85(3H, с)

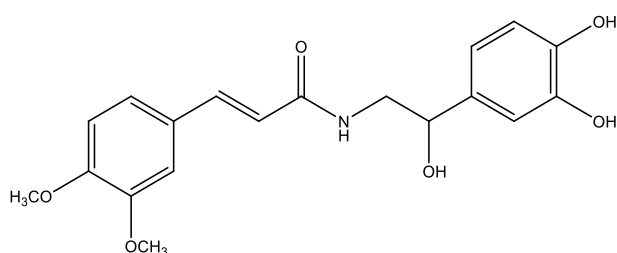
**18-зат** – ақ түсті аморфты ұнтақ түрінде бөлінді, балқу температурасы 225–227 °С, оптикалық айналуы  $[\alpha]_D^{21} = -23^\circ$  (c=0.1 мг/мл, MeOH), молекулалық массасы EI-MS,  $m/z$  359  $[M]^+$  болып,  $C_{19}H_{21}NO_6$  молекулалық формуласына сәйкес келеді. Физико-химиялық талдау және ЯМР  $^1H$  және  $^{13}C$  нәтижелері (21 – кесте) мен әдеби деректерді салыстырып талдау арқылы мен ЯМР  $^1H$  және  $^{13}C$  нәтижелерін (26–кесте) әдебиетте көрсетілген мәндерді салыстырып талдау арқылы **18-зат** N-[2-(3,4-дигидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-диметоксифенил)-проп-2-енамид болып идентификацияланды [150].

27 – Кесте. *Petrosimonia* өсімдігінен бөлінген 16-, 17-заттардың <sup>1</sup>H- және <sup>13</sup>C-ЯМР спектр мәліметтері (CD<sub>3</sub>OD)

C	17-зат		16-зат	
	<sup>13</sup> C (δ <sub>C</sub> )	<sup>1</sup> H [δ <sub>H</sub> (J <sub>HH</sub> , Гц)]	<sup>13</sup> C (δ <sub>C</sub> )	<sup>1</sup> H [δ <sub>H</sub> (J <sub>HH</sub> , Гц)]
1	128.46	-	128.45	-
2	111.54	7.11 (д, J=1.9)	114.07	7.39 (д, J=1.8)
3	149.36	-	148.51	-
4	150.12	-	148.63	-
5	116.51	6.77 (д, J=8.6)	116.10	6.74 (д, J=8.6)
6	123.32	7.03 (дд, J=8.2/1.2)	121.30	6.94 (дд, J=8.2/1.8)
7	142.28	7.45 (д, J=15.7)	138.89	6.63 (д, J=12.7)
8	118.56	6.47 (д, J=15.7)	121.29	5.84 (д, J=12.7)
9	169.52	-	170.46	-
1'	134.74	-	134.63	-
2'	128.16	7.22 (д, J=8.4)	128.45	7.17 (д, J=8.5)
3'	116.12	6.79 (д, J=9.2)	116.09	6.73 (д, J=8.2)
4'	158.12	-	158.10	-
5'	116.12	6.79 (д, J=9.2)	115.82	6.73 (д, J=8.2)
6'	128.16	7.22 (д, J=8.4)	128.45	7.17 (д, J=8.5)
7'	73.45	4.73 (дд, J=7.6/5)	73.32	4.68 (дд, J=7.6/5)
8'	48.32	3.55(дд, J=13.6/4.9), 3.45(дд, J=13.5/7.8)	48.09	3.48 (дд, J=13.5/4.8) 3.41 (дд, J=13.6/7.8)
Ome	56.37	3.88 (3H, с)	56.40	3.83 (3H, с)



56 – Сурет. N-транс-ферулоилоктопамин-А (17-зат) және N-цис-ферулоилоктопамин-Ә (16-зат) құрылымдары

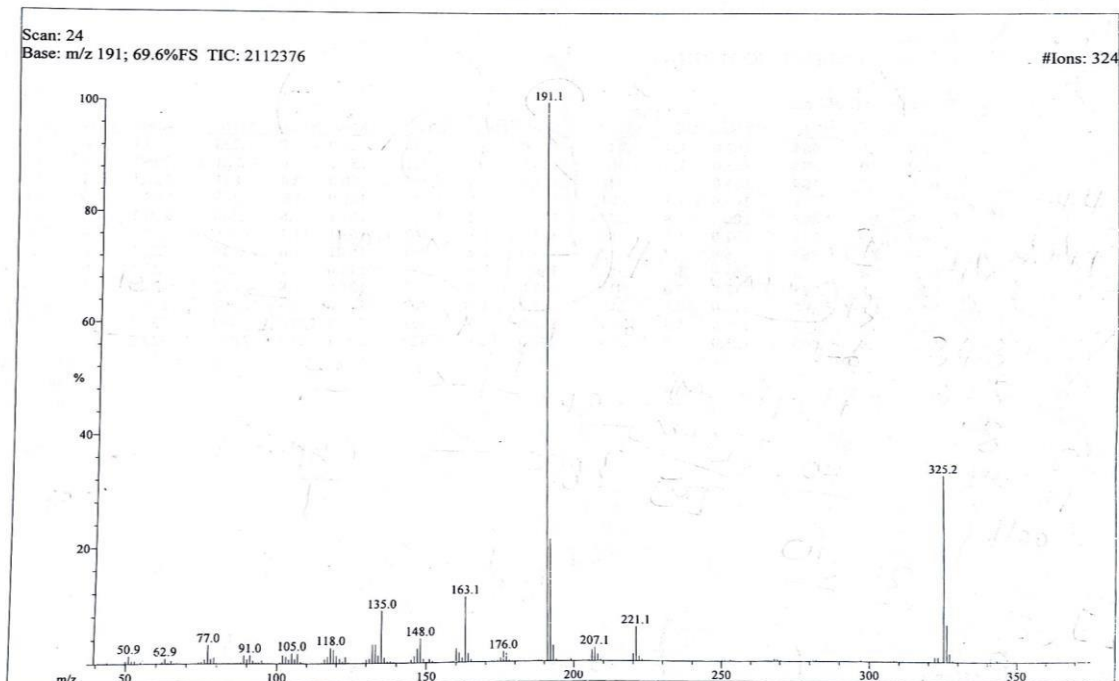


57 – Сурет. N-[2-(3,4-гидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-метоксифенил)-проп-2-энамид (18-зат) құрылымы

File: PD50D3- Date Run: 12-26-2019 (Time Run: 16:31:55)  
Sample: MERUYERTKOZHA / DR. M.IQBAL  
Instrument: JEOL 600H-1  
Inlet: Direct Probe

Run By: MASS LAB-104

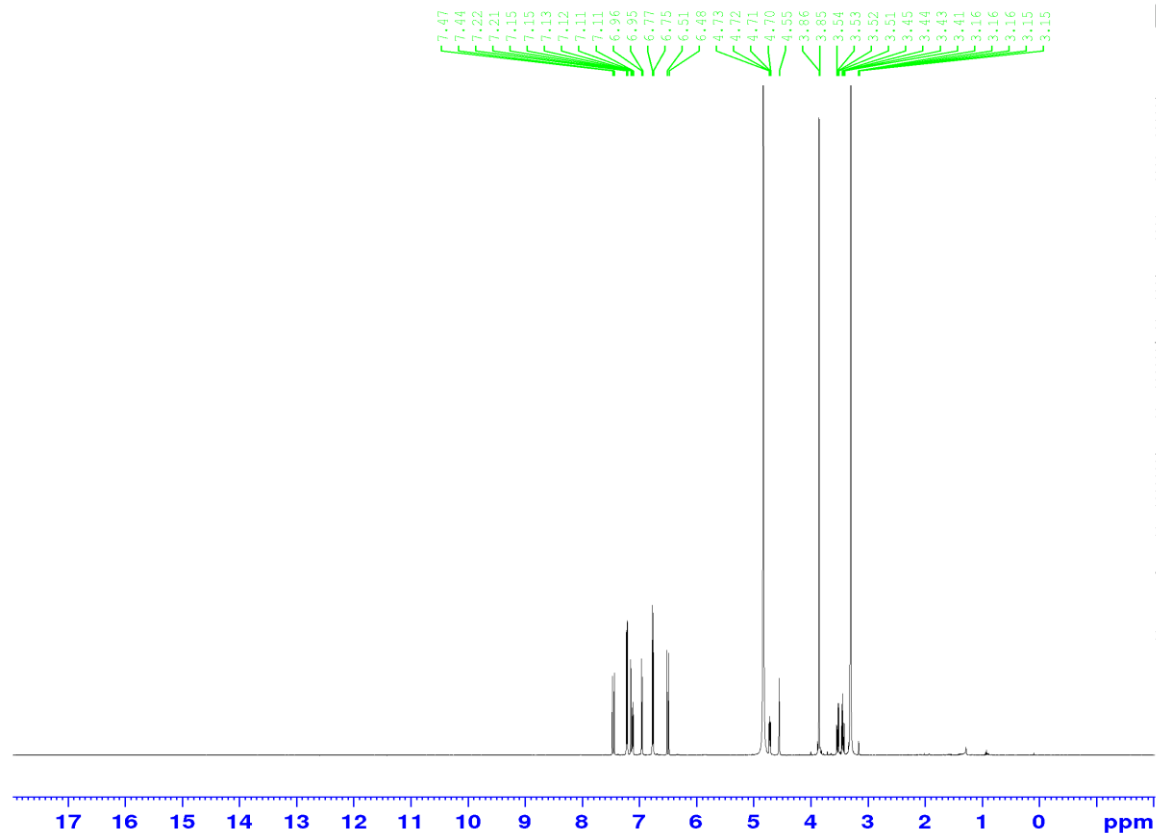
Ionization mode: EI+



Mass	Relative Intensity	Theoretical Mass	Delta [ppm]	Delta [mmu]	RDB	Composition
		308.0896	10.6	3.3	8.0	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>
		308.0982	-17.1	-5.3	3.5	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub> N <sub>1</sub>
		308.0837	29.7	9.1	17.0	C <sub>22</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>
309.0976	0.8	309.0974	0.5	0.2	7.5	C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> O <sub>7</sub>
		309.1001	-8.1	-2.5	12.0	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> O <sub>4</sub> N <sub>1</sub> ✓
		309.0916	19.5	6.0	16.5	C <sub>22</sub> H <sub>13</sub> O <sub>2</sub>
		309.1060	-27.1	-8.4	3.0	C <sub>11</sub> H <sub>19</sub> O <sub>9</sub> N <sub>1</sub>
310.1044	0.6	310.1053	-2.7	-0.8	7.0	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>
		310.1079	-11.3	-3.5	11.5	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub> N <sub>1</sub> ✓
		310.0994	16.2	5.0	16.0	C <sub>22</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>
312.0984	0.5	312.0998	-4.5	-1.4	11.0	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>
		312.1025	-13.1	-4.1	15.5	C <sub>21</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub> N <sub>1</sub>
		312.0939	14.4	4.5	20.0	C <sub>25</sub> H <sub>12</sub>
		312.0931	17.0	5.3	2.5	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub> N <sub>1</sub>
		312.1056	-23.3	-7.3	2.0	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>
321.1004	0.6	321.1001	1.1	0.3	13.0	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> O <sub>4</sub> N <sub>1</sub> ✓
		321.0974	9.4	3.0	8.5	C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> O <sub>3</sub>
		321.1060	-17.2	-5.5	4.0	C <sub>12</sub> H <sub>19</sub> O <sub>9</sub> N <sub>1</sub>
		321.0916	27.7	8.9	17.5	C <sub>23</sub> H <sub>13</sub> O <sub>2</sub>
322.1080	42.7	322.1079	0.3	0.1	12.5	C <sub>19</sub> H <sub>13</sub> O <sub>7</sub> N <sub>1</sub> ✓
		322.1053	8.7	2.8	8.0	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>
		322.1138	-17.9	-5.8	3.5	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub> N <sub>1</sub>
		322.0994	26.9	8.7	17.0	C <sub>23</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>
323.1147	28.1	323.1158	-3.4	-1.1	12.0	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> O <sub>4</sub> N <sub>1</sub> ✓
		323.1131	4.9	1.6	7.5	C <sub>16</sub> H <sub>19</sub> O <sub>3</sub>
		323.1216	-21.5	-7.0	3.0	C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> O <sub>3</sub> N <sub>1</sub>
		323.1072	23.1	7.5	16.5	C <sub>23</sub> H <sub>15</sub> O <sub>2</sub>
324.1215	9.8	324.1209	2.0	0.6	7.0	C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>
		324.1236	-6.3	-2.0	11.5	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub> N <sub>1</sub>
		324.1150	20.1	6.5	16.0	C <sub>23</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>
		324.1295	-24.4	-7.9	2.5	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub> N <sub>1</sub>
325.1307	15.9	325.1314	-2.3	-0.8	11.0	C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> O <sub>4</sub> N <sub>1</sub> ✓
		325.1287	5.9	1.9	6.5	C <sub>16</sub> H <sub>21</sub> O <sub>3</sub>
		325.1373	-20.4	-6.6	2.0	C <sub>12</sub> H <sub>23</sub> O <sub>3</sub> N <sub>1</sub>
		325.1229	24.0	7.8	15.5	C <sub>23</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub>
326.1361	3.3	326.1366	-1.3	-0.4	6.0	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>
		326.1392	-9.5	-3.1	10.5	C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub> N <sub>1</sub>
		326.1307	16.7	5.5	15.0	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>
		326.1451	-27.5	-9.0	1.5	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>5</sub> N <sub>1</sub>
327.1363	0.6	327.1385	-6.9	-2.3	14.5	C <sub>23</sub> H <sub>19</sub> O <sub>2</sub>
		327.1318	13.6	4.4	6.0	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> O <sub>3</sub> N <sub>1</sub>
		327.1291	21.8	7.1	1.5	C <sub>12</sub> H <sub>23</sub> O <sub>10</sub>
		327.1444	-24.8	-8.1	5.5	C <sub>16</sub> H <sub>23</sub> O <sub>3</sub>
343.1404	0.7	343.1393	3.2	1.1	5.5	C <sub>16</sub> H <sub>21</sub> O <sub>3</sub>
		343.1420	-4.6	-1.6	10.0	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> O <sub>5</sub> N <sub>1</sub>
		343.1361	12.5	4.3	19.0	C <sub>26</sub> H <sub>17</sub> N <sub>1</sub>
		343.1334	20.3	7.0	14.5	C <sub>23</sub> H <sub>19</sub> O <sub>3</sub>
		343.1478	-21.7	-7.5	1.0	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub> O <sub>10</sub> N <sub>1</sub>

58 – Сурет. N-[(2S)-2-(4-гидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-метоксифенил)-(2E)-проп-2-энамидтің масс спектірі (15-зат)

MERUYERTKOZHA/DR. IQBAL/PD50D3/CD3OD  
1H



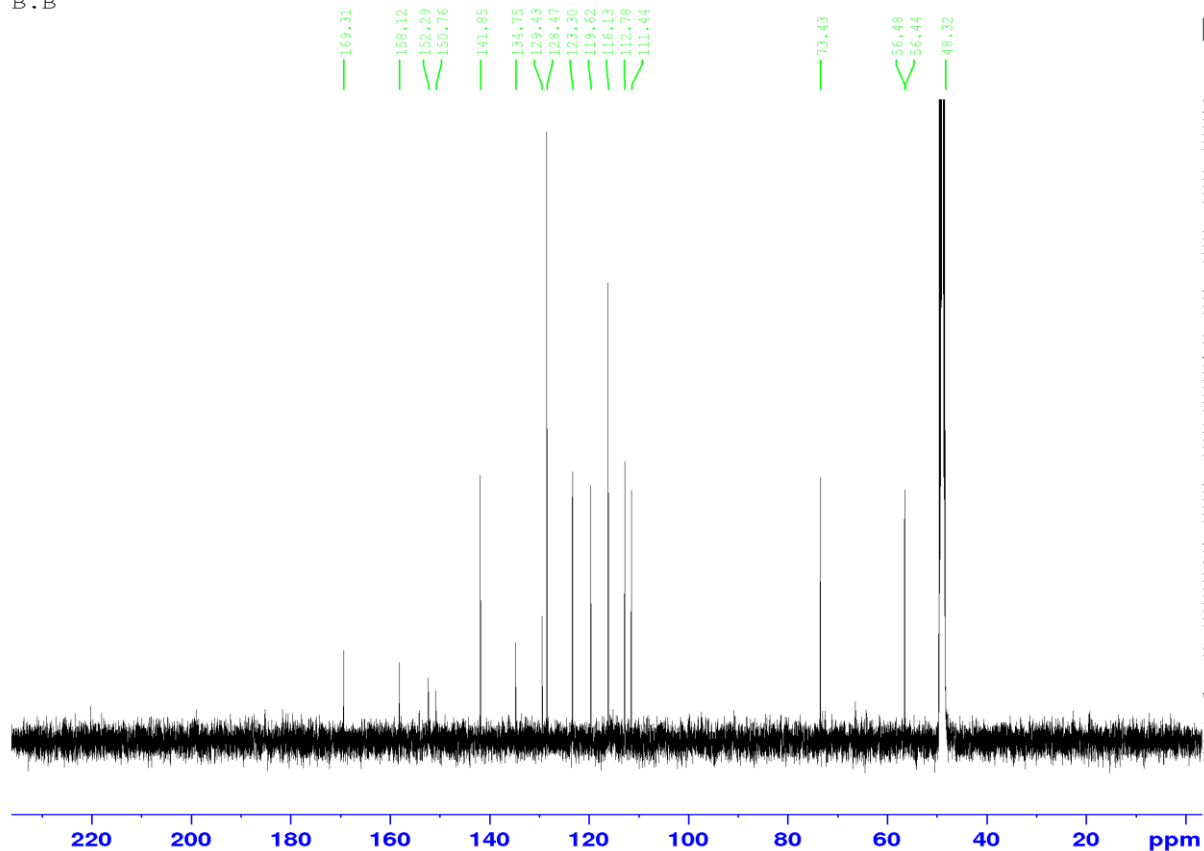
```
Current Data Parameters
NAME          PD50D3
EXPNO         6
PROCNO        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_         20191226
Time          16.13 h
INSTRUM       AVNeo500MHz
PROBHD        Z859201_0007 {
PULPROG       zg30
TD            65536
SOLVENT       MeOD
NS            64
DS            0
SWH           10000.000 Hz
FIDRES        0.305176 Hz
AQ            3.2767999 sec
RG            101
DW            50.000 usec
DE            11.31 usec
TE            300.0 K
D1            1.50000000 sec
TD0           1
SFO1          500.1340010 MHz
NUC1          1H
FO            2.33 usec
F1            7.00 usec
PLW1          17.96400070 W

F2 - Processing parameters
SI            32768
SF            500.1300145 MHz
WDW           EM
SSB           0
LB            0.30 Hz
GB            0
PC            1.00
```

59 – Сурет. N-[(2S)-2-(4-гидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-метоксифенил)-(2E)-проп-2-энамидтің <sup>1</sup>H – ЯМР спектрі (15-зат)

MERUYERTKOZHA/DR. IQBAL/PD50D3/CD3OD  
B.B

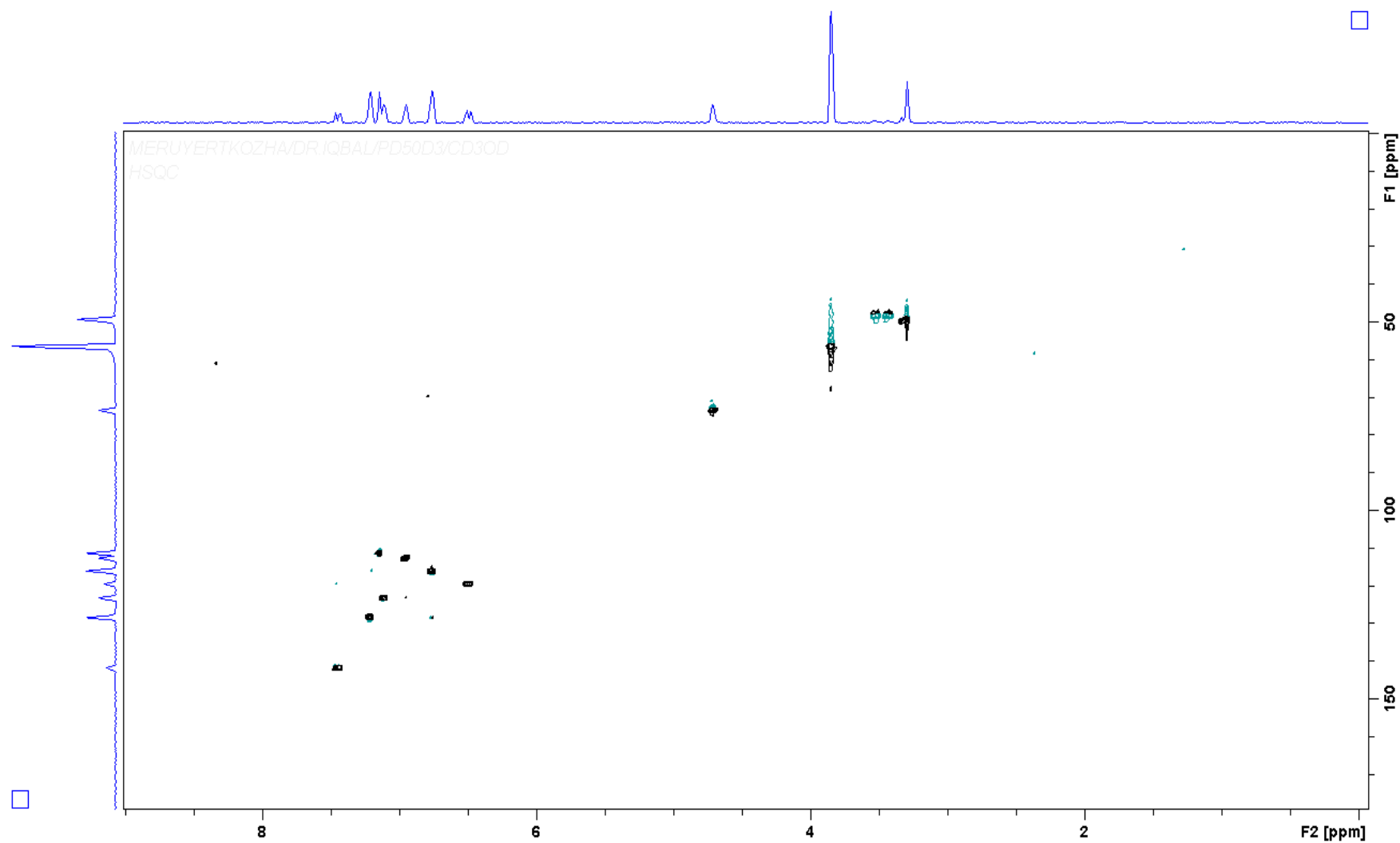


```
Current Data Parameters
NAME          PD50D3
EXPNO         2
PROCNO        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_         20191231
Time          4.29 h
INSTRUM       AVNeo500MHz
PROBHD        Z859201_0007 (
PULPROG       zgpg
TD            32768
SOLVENT       MeOD
NS            18432
DS            4
SWH           30120.482 Hz
FIDRES        1.838408 Hz
AQ            0.5439488 sec
RG            101
DW            16.600 usec
DE            6.50 usec
TE            300.0 K
D1            2.00000000 sec
D11           0.03000000 sec
TDO           18
SFO1          125.7722507 MHz
NUC1          13C
P1            15.00 usec
PLW1          119.40000153 W
SFO2          500.1320005 MHz
NUC2          1H
CPDPRG[2]    waltr65
PCPD2         80.00 usec
PLW2          17.96400070 W
PLW12         0.13754000 W
PLW13         0.06918100 W

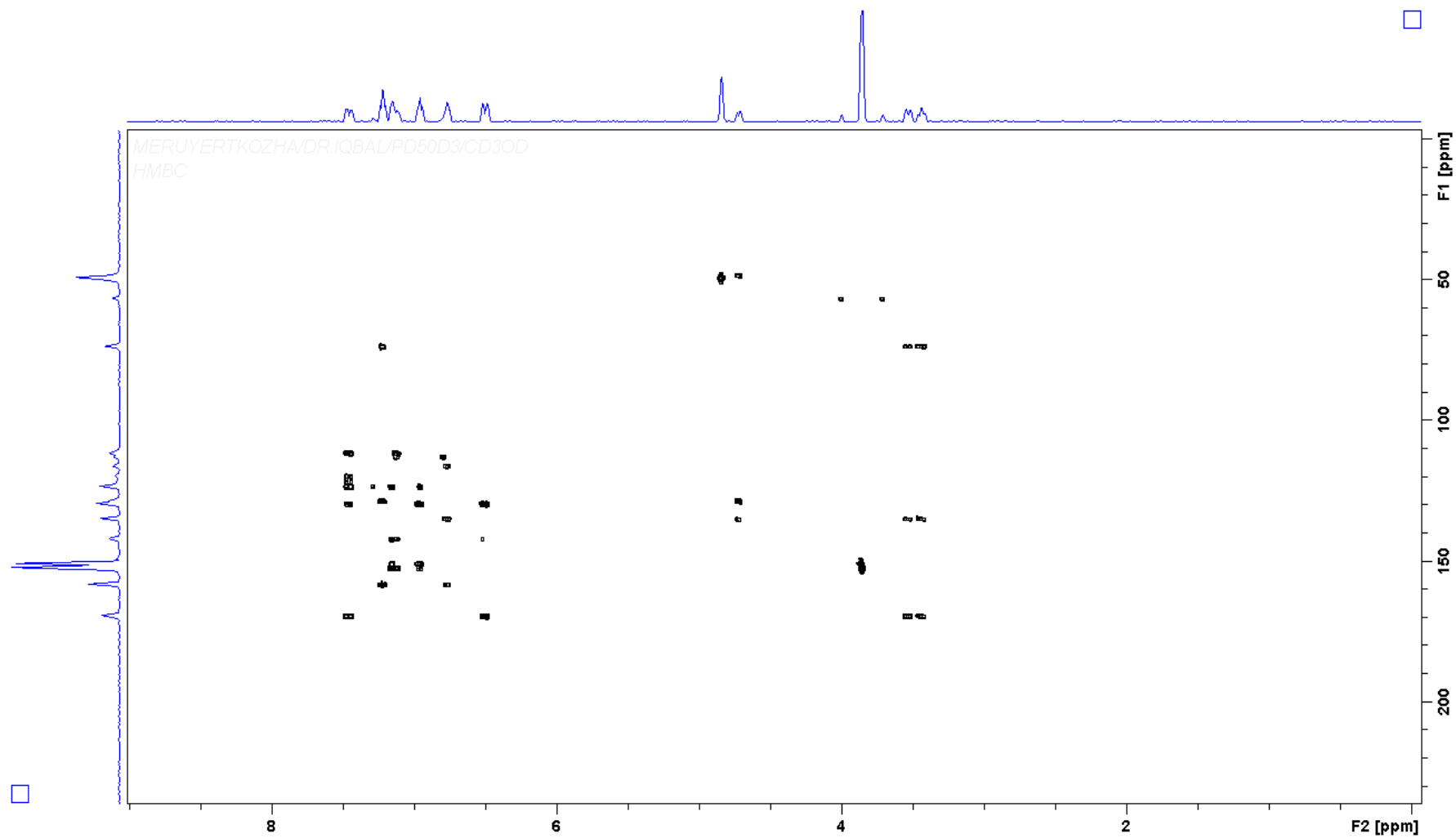
F2 - Processing parameters
SI            32768
SF            125.7576107 MHz
WDW           EM
SSB           0
LB            1.00 Hz
GB            0
PC            1.40
```

60 – Сурет. N-[(2S)-2-(4-гидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-метоксифенил)-(2E)-проп-2-энамидтің  $^{13}\text{C}$  – ЯМР спектрі (15-зат)

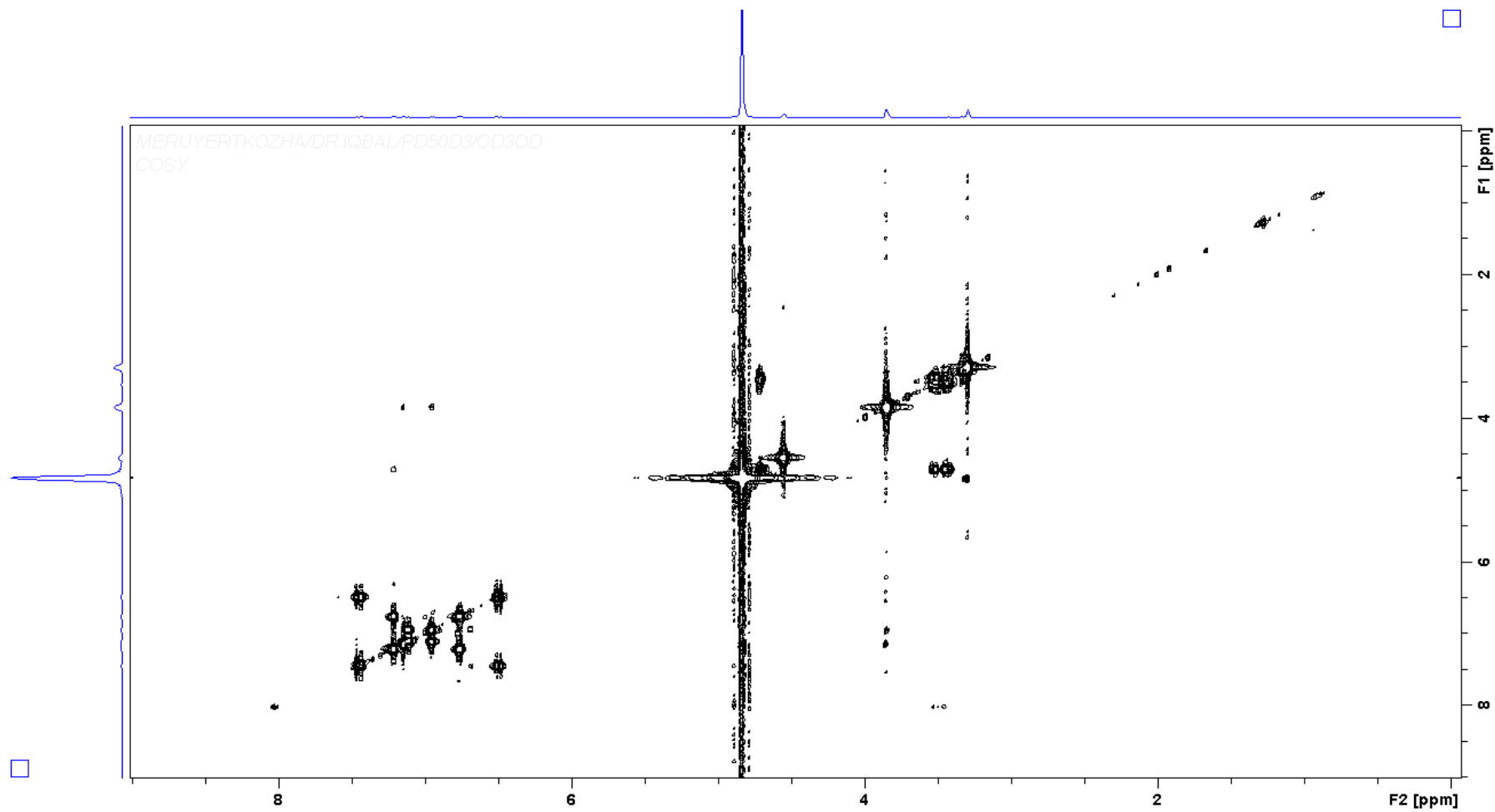


61 – Сурет. N-[(2S)-2-(4-гидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-метоксифенил)-(2E)-проп-2-энамидтің НМВС спектрі (15-зат)

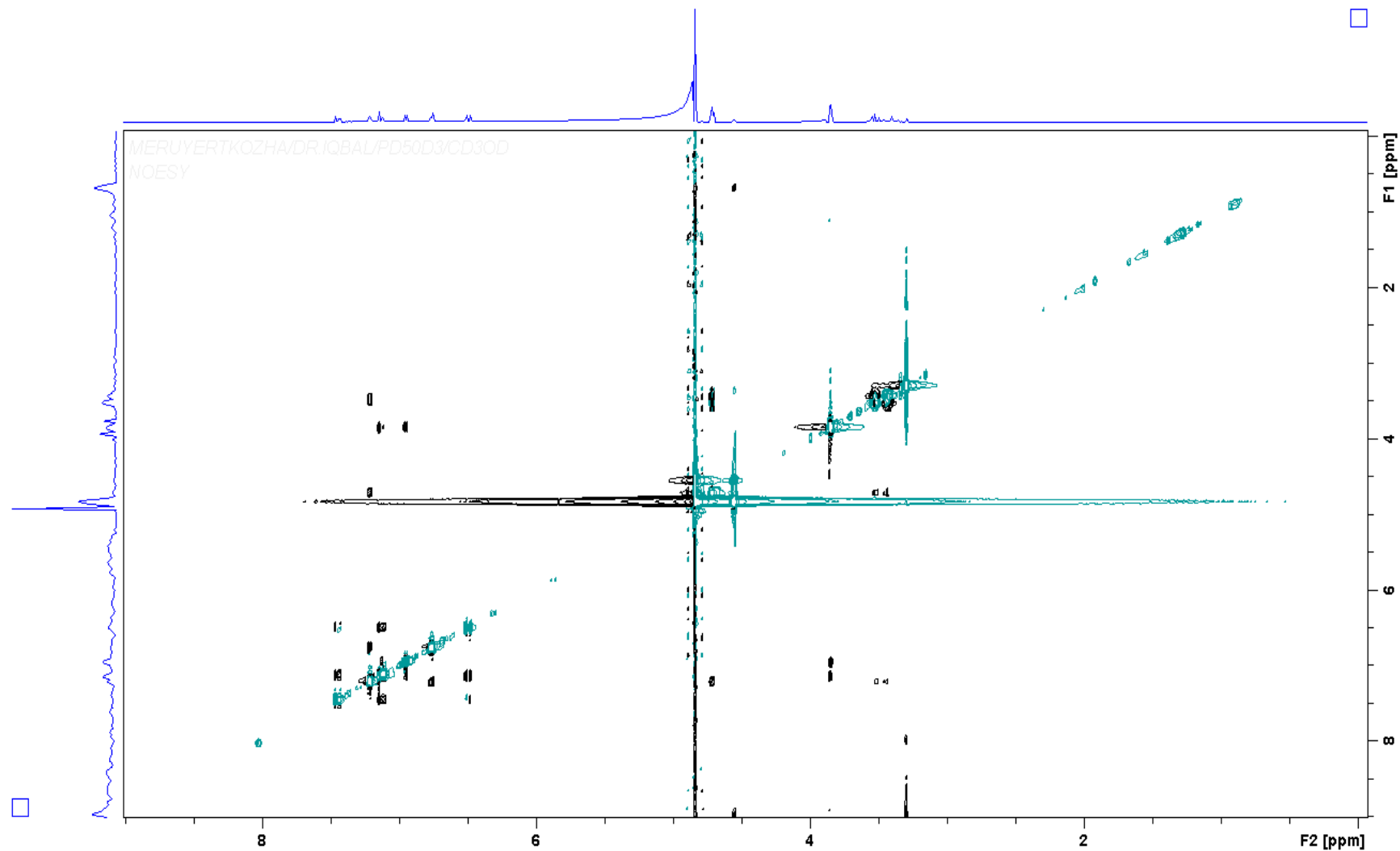




62 – Сурет. N-[(2S)-2-(4-гидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-метоксифенил)-(2E)-проп-2-энамидтің HSQC спектрі (15-зат)



63 – Сурет. N-[(2S)-2-(4-гидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-метоксифенил)-(2E)-проп-2-энамидтің COSY-45<sup>0</sup> спектрі (15-зат)

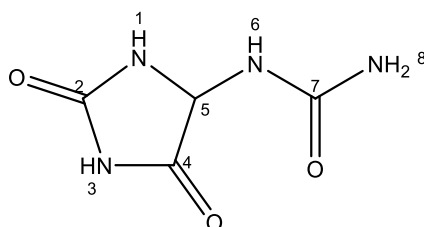


64 – Сурет. N-[(2S)-2-(4-гидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-метоксифенил)-(2E)-проп-2-энамидтің NOESY спектрі (15-зат)

**22-зат** – түссіз ине тәрізді кристал түрінде бөлінді, балқу температурасы 230-232 °С, оптикалық айналуы  $[\alpha]_D^{21} = 1.33^\circ$  (с=0.17 мг/мл, Н<sub>2</sub>О). ИҚ созылу жолақтары NH<sub>2</sub>-3414 см<sup>-1</sup>, NH-2256, 2129 см<sup>-1</sup> және СО-1655 см<sup>-1</sup> тербелістерін берді. Масс фрагментация үлгісі [(m/z 158 [M+9%]) (C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>) молекулалық формуласына сәйкес, одан әрі m/z 141 [M-NH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> шыңы (12%), m/z 130 [M-CO]<sup>+</sup> шыңы (100%), 115 [M-CONH]<sup>+</sup> шыңы (39%), 114 [M-CONH<sub>2</sub>]<sup>+</sup> шыңы (16%), 60 [MN<sub>2</sub>H<sub>4</sub>CO]<sup>+</sup> шыңы (40%). УК спектрі (MeOH) λ<sub>max</sub> 226 және 230 нм де шыңдарды берді.

Қосылыстың <sup>1</sup>H-ЯМР спектрі (28-кесте) δ<sub>H</sub> 5.24-10.53 аймағында алты протон сигналын көрсетті. Н-1 және Н-6 сигналдары δ<sub>H</sub> 6.87 ppm (J = 8,1 Гц) және δ 5.24 ppm (J = 8,1 Гц) аймағында дублеттер түріндегі химиялық ығысулар болды. Қалған сигналдар δ<sub>H</sub> 10.53, 8.03 және 5.76 ppm кезінде синглиттер ретінде пайда болған протондар Н-3, Н-5 және Н-8 позицияларына тиеселі. С-5 хираль орталығының стереохимиясы Н-5 синглет ретінде пайда болып, ал Н-1 және Н-6 тиісінше дублеттерді айшықтады. <sup>13</sup>С-ЯМР спектрі тек төрт көміртек сигналын көрсетіп, бұл затта үш карбонил тобының бар екені белгілі болды (27-кесте).

Екі карбонил тобы С-2 және С-7 көміртектері сәйкесінше δ 157.1 және δ 157.6 сигналдары бір-біріне өте жақын екені анықталды. Қорғанысы аз δ 173.5 ppm сигналы С-4 көміртегіне тиеселі ығысу болды, ал қалған δ 62.7 ppm сигналы С-5 көміртек атомының химиялық ығысқанын білдірді. Физико-химиялық талдаулар мен әдебиет деректері негізінде **22-зат** аллантаин болып идентификацияланды [151-153].

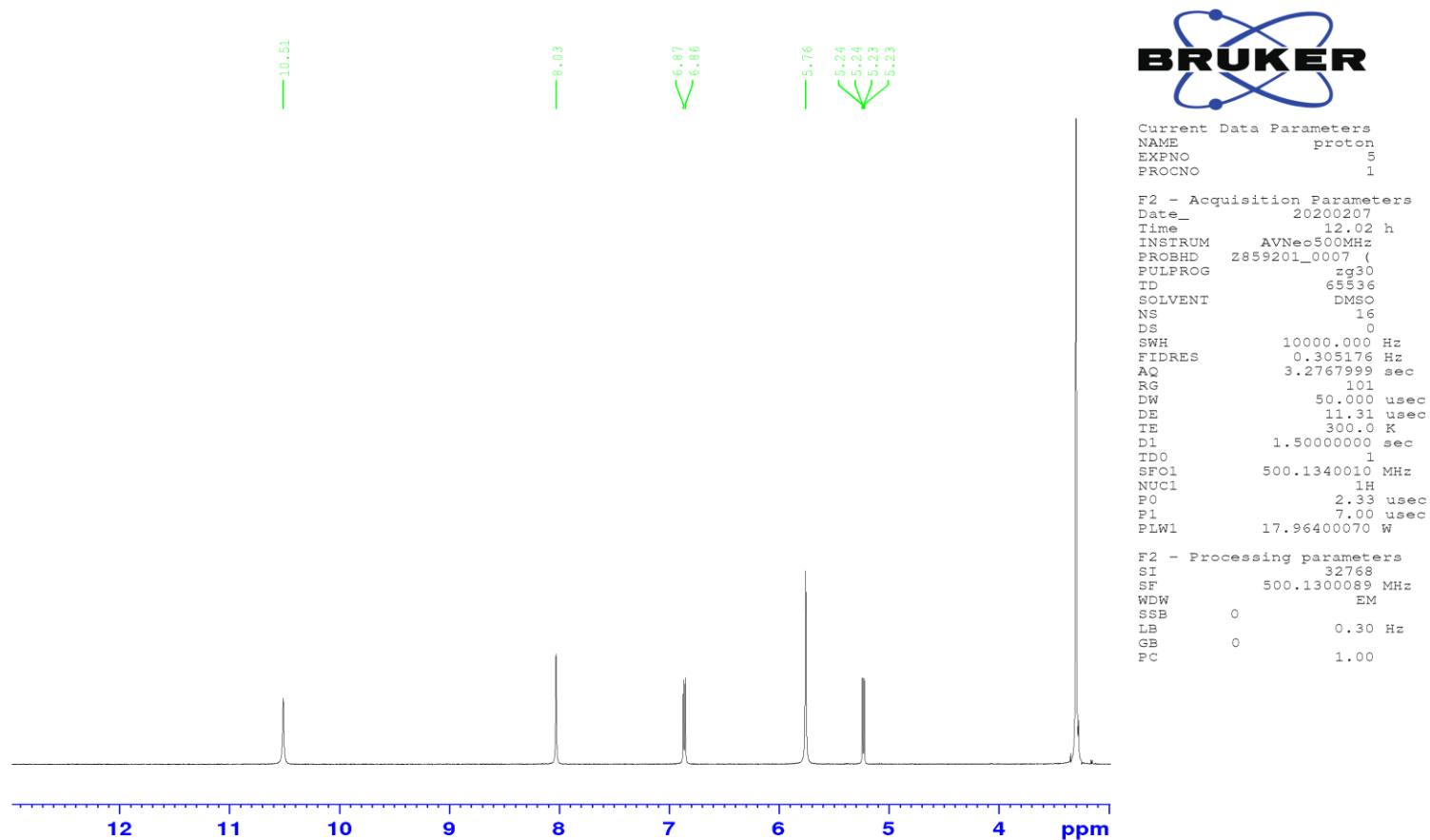


65 – Сурет. (S)-аллантаин құрылымы (22-зат)

28 – Кесте. *Petrosimonia* өсімдігінен бөлінген 22-заттың <sup>1</sup>H- және <sup>13</sup>С-ЯМР спектр мәліметтері

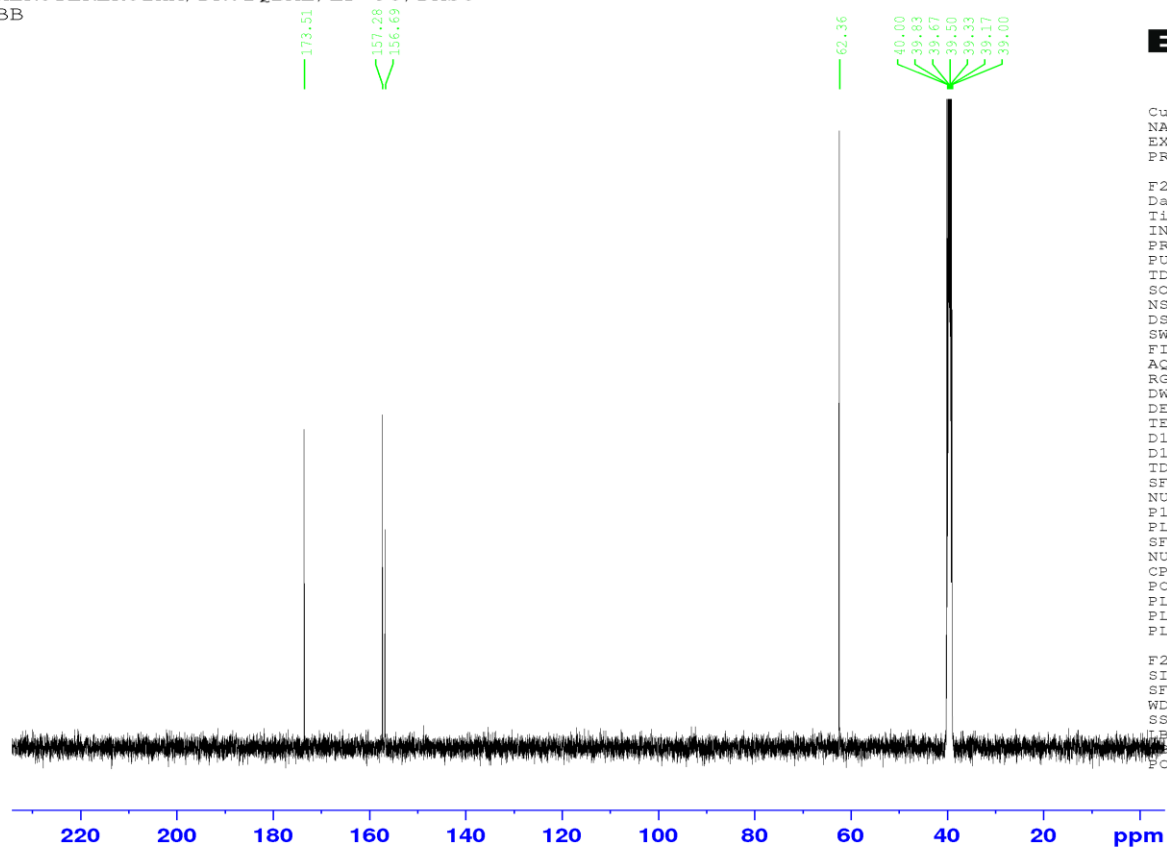
C	22-зат (DMSO)	
	<sup>13</sup> C δ, ppm	<sup>1</sup> H δ, ppm
1	-	6.87 (1H, d, J=8.15)
2	156.7	-
3	-	10.53 (1H, c)
4	173.5	-
5	62.4	8.03 (1H, c)
6	-	5.24 (1H, dd, J=8.15, 1.1)
7	157.3	-
8	-	5.76 (2H, s)

MERUTERTKOZHA/DR. IQBAL/EF-98/DMSO  
1H



66 – Сурет. Аллантиинның  $^1\text{H}$  – ЯМР спектрі (22-зат)

MERUYEREKOZHA/DR.IQBAL/EF 98/DMSO  
BB



```
Current Data Parameters
NAME          EF98
EXPNO         6
PROCNO        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_         20200212
Time          5.44 h
INSTRUM       AVNeo_500
PROBHD        Z8281_0183 (TX)
PULPROG       zgpg
TD            32768
SOLVENT       DMSO
NS            18432
DS            4
SWH           30120.482 Hz
FIDRES        1.838408 Hz
AQ            0.5439488 sec
RG            101
DW            16.600 usec
DE            12.00 usec
TE            300.0 K
D1            2.00000000 sec
D11           0.03000000 sec
TD0           18
SFO1          125.7973986 MHz
NUC1          13C
P1            12.00 usec
PLW1          229.03999329 W
SFO2          500.2320009 MHz
NUC2          1H
CPDPRG[2]    waltz65
PCPD2         80.00 usec
PLW2          18.45899963 W
PLW12         0.18459000 W
PLW13         0.09284900 W

F2 - Processing parameters
SI            16384
SF            125.7829980 MHz
WDW           EM
SSB           0
GB            0
PC            1.00 Hz
FC            1.40
```

67 – Сурет. Аллантойынның  $^{13}\text{C}$  – ЯМР спектрі (22-зат)

#### **4 PETROSIMONIA ӨСІМДІГІНЕН АЛЫНҒАН ФИТОПРЕПАРАТТАРДЫҢ БИОЛОГИЯЛЫҚ БЕЛСЕНДІЛІКТЕРІ**

*Petrosimonia* өсімдігінен алынған 5 фитопрепарат пен 5 жеке зат биологиялық белсенділікті анықтау жұмысына тапсырылды. Биоскрининг жасалған фитопрепараттар мен заттардың коды төменде 29 – кестеде көрсетілген. Фитопрепараттар мен жеке заттардың биологиялық белсенділігі (*in vitro*) арнайы жабдықталған Panjwani Center for Molecular Medicine and Drug Research, International Center for Chemical and Biological Science (Карачи, Пәкістан) ғылыми орталығының мамандандырылған зертханалырында жасалды.

*Petrosimonia* өсімдігінің 80%-ды этанол экстрактісінен алынған гексан, дихлорметан, этилацетат, бутанол және сулы сығындылары мен осы өсімдік түрінен бөлінген жеке заттардың бактерияға, қабынуға, тотығуға, лейшманияға және DPPH бактерияға қарсы белсенділігі тексерілді.

Препараттар мен жеке заттардың биоскрининг зерттеу жұмыстарының нәтижесінде этилацетат және гексан сығындылары бактерияға, қабынуға қарсы өте жақсы белсенділік көрсетіп, қалған сығындылар мен жеке заттар нәтижесіз болды.

**Бактерияға қарсы белсенділік** 5 әр түрлі бактериалдық штамдар көмегімен (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* және *Salmonella typhi*) «Аламар көк микропластикасы» әдісі арқылы жасалды. Стандартты үлгі ретінде имипенум 50 мкг/мл концентрациясында қолданылып, биоскрининг нәтижелері 30 – кестеде көрсетілген.

**Қабынуға қарсы белсенділік** «Мембрананы тұрақтандыру» әдісі арқылы жасалды. Бақылау ерітіндісі ретінде *ибуфен* 25 мкг/мл стандартты үлгісі қолданылып, ингибирленуі  $73.2 \pm 1.4 \%$ ,  $IC_{50} = 11.2 \pm 1.9$  мкг/мл-ды құрады.

29 – Кесте. *Petrosimonia* өсімдігінен алынған фитопрепарат коды

Өсімдік бөліктері	Препарат коды	Сығындылар мен заттар
Жер үсті бөлігі	DCM1	Дихлорметан сығындысы
	Hex2	Гексан сығындысы
	EtOAc3	Этилацетат сығындысы
	Wat4	Сулы қалдық
	But5	Бутанол сығындысы
	H-11	$\beta$ -ситостерол (6-зат)
	EF-36	Ванилин қышқылы (9-зат)
	EF-95	Изорамнетиннің 3-О- $\beta$ -D-глюкопиранозиді (19-зат)
	EF-89-1	15-зат
	EF-89-3	N-транс-ферулоилоктопамин (17-зат)



30 – Кесте. *Petrosimonia* өсімдігінің этилацетат экстрактісінің бактерияға қарсы белсенділік нәтижесі

Бактерия аты	Сығындының ингибитор пайызы (%)	Дәрінің ингибиторпайызы (%)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Ингибитор жоқ	90.80 %
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 23857	Ингибитор жоқ	88.96%
<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 6571	<b>74.24%</b>	<b>88.85%</b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	Ингибитор жоқ	94.10%
<i>Salmonella typhi</i> ATCC 14028	Ингибитор жоқ	89.83 %

Сығынды мөлшері: 60 мг; Дәрілік зат мөлшері: 10 мг; Сығынды концентрациясы: 3000 мкг/мл; Дәрілік заттың концентрациясы: 50 мкг/мл.

31 – Кесте. *Petrosimonia* өсімдігінің гексан және этилацетат экстрактілерінің қабынуға қарсы белсенділік нәтижесі

№	Үлгі	Концентрация (мкг/мл)	Ингибитор (%)	IC <sub>50</sub> ± SD
1	Дихлорметан экстракті	50	43.2	-
2	<b>Гексан экстракті</b>	50	<b>96.7</b>	<b>14.1 ± 0.3</b>
3	<b>Этилацетат экстракті</b>	50	<b>89.3</b>	<b>19.7 ± 3.3</b>
4	Сулы қалдық	50	4.0	-
5	н-Бутанол экстрактісі	50	13.1	-

## ҚОРЫТЫНДЫ

### Зерттеулер нәтижесінде келесідей қорытындылар жасалды:

1. Биологиялық белсенді қосылыстар мен кешендердің жаңа көздерін анықтау мақсатында алғаш рет *Petrosimonia* тұқымдас өсімдіктердің кейбір түрлеріне іргелі зерттеу жүргізілді. Қазақстан республикасы Алматы обылысынан жиналған Алабұта (*Chenopodiaceae*) тұқымдасына жататын *Petrosimonia* өсімдігінің *triandra*, *glaucescens*, *brachiata* және *sibirica* түрлеріне салыстырмалы сараптау жасалынып, биологиялық белсенді заттардың негізгі топтарының сапалық және сандық құрамын анықтау нәтижелері келтірілген.

2. Жеке заттарды бөлудің ғылыми негізі жасалынып, технологиялық блок-жүйесі ұсынылып, құрғақ экстракт алудың материалдық баланысы есептелді. Зерттеу нысандарынан 58 зат табылып, оның ішінде 14-і газ-сұйықтық хроматографиясы арқылы, 20 қосылыс аминқышқылды анализатор көмегімен анықталды.

3. Биологиялық белсенді заттардың негізі топтарын анықтаудың ғылыми негізі ұсынылды. Класикалық мацерация және заманауи жоғары критикалық флюиді CO<sub>2</sub> – экстракция әдістерін қолдану арқылы 16 экстракт алынды. *Petrosimonia* тұқымдас өсімдіктерден биологиялық белсенді заттарды бөлу үшін *силикагель*, *сефадекс* бағаналы хроматографиясы, *препараттық жұқа қабатты* хроматография және *препараттық жоғары эффективті сұйық хроматография* әдістері қолданылды, алкалоидтарды бөлу C18 ODS-H80 сорбентінде жүргізілді. Ғылыми зерттеу жұмысының нәтижесінде **24** зат бөлінді: 5 алкалоидты зат: N-[(2S)-2-(4-гидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-диметоксифенил)-(2E)-проп-2-енамид, N-*цис*-ферулоилоктопамин, N-*транс*-ферулоилоктопамин, N-[(2S)-(3,4-дигидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-диметоксифенил)-проп-2-енамид және аллантоин, оның ішінде біреуі әдебиеттерде келтірілмеген жаңа зат: (N-[(2S)-2-(4-гидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-диметоксифенил)-(2E)-проп-2-енамид), 1 алканол (н-гексадеканол), 1 эфир (4-гидроксифенетил тетрадекан қышқылы), 5 стероидты зат және 12 полифенолды зат. Оқшауланған барлық заттардың құрылысын дәлелдеу үшін заманауи физико-химиялық спектрлік талдау әдістері (УК, ИК, FAB-MS, EI-MS, ESI-MS, HR-EI-MASS, ECD, ЯМР <sup>13</sup>C және <sup>1</sup>H, HMBC, HSQC, COSY- 45<sup>0</sup>, NOESY) қолданылды.

4. *Petrosimonia* тұқымдас өсімдіктерден мацерация әдісі арқылы алынған екі экстракт (гексан және этилацетат) қабынуға және бактерияға қарсы өте жоғары белсенділікке ие болды.

### Алға қойылған міндеттердің толық шешілу бағасы.

Диссертациялық жұмысқа қойылған міндеттер толық орындалды. Алабұта (*Chenopodiaceae*) тұқымдасына жататын *Petrosimonia* өсімдік түрлерінен биологиялық белсенді заттарды алудың жаңа көздері анықталды. *Petrosimonia* өсімдігінің қазақстанда өсетін түрлеріне (*triandra*, *glaucescens*, *brahiata* және *sibirica*) салыстырмалы химиялық сараптау жүргізілді. Зерттеу нысаны болып

отырған өсімдіктер құрамындағы биологиялық белсенді заттардың сандық мөлшері анықталып, биологиялық белсенді кешен және жеке заттарды алу мен бөлудің сызба-нұсқасы жасалды. Бұрыннан белгілі және бұған дейін әдебиетерде сипатталмаған жаңа қосылыс алынып, оның құрылысы белгілі болды. *Petrosimonia* тұқымдас өсімдіктерден бактерияға қарсы белсенділігі бар фитопрепарат алудың оңтайлы жолы ұсынылды.

### **Нәтижелердің нақты қолданылуы жөніндегі ұсыныстар.**

Биологиялық талдау нәтижесінде Қазақстанда өсетін *Petrosimonia* тұқымдас өсімдіктен алынған фитопрепарат қабынуға және *Staphylococcus aureus* бактериясына қарсы белсенділік көрсетті. Осы қасиеттерге сүйене отырып, алынған нәтижелер биоорганикалық химия, фармацевция және ауыл шаруашылығында кеңінен қолдануға ұсынылуы тиіс. *Petrosimonia* өсімдігінен алынған, экстракт көрсеткен биоскрининг нәтижесінің мәліметтері «Бактерияға қарсы әсер көрсететін дәрілік зат алудың тәсілі» (№7680, 23.12.2022) - атты ҚР-ның пайдалы модельмен қорғалды.

### **Зерттеу нәтижелерін енгізуді техника-экономикалық тұрғыдан бағалау.**

- Ғылыми-зерттеу жұмысында *Petrosimonia* тұқымдас өсімдіктерден биологиялық белсенді заттарды алу және оқшаулаудың тиімді сызба-нұсқасы мен технологиясы ұсынылды.

- Зерттеу нәтижесінде жеке күйінде бөлінген 24 заттың құрылысы заманауи физико-химиялық талдау әдістерімен (УК, ИҚ, FAB-MS, EI-MS, ESI-MS, HR-EI-MASS, ECD, ЯМР  $^{13}\text{C}$  және  $^1\text{H}$ , HMBC, HSQC, COSY- 45<sup>0</sup>, NOESY) дәлелденді.

- Алғаш *Petrosimonia* өсімдік түрінен қабынуға және бактерияға қарсы кешен алынды.

- Биологиялық белсенділікті сараптау нәтижесінде қабынуға және бактерияға қарсы жоғары белсенділік көрсеткен кешендер болашақта медицина саласында жаңа және қол жетімді отандық өнім ретінде фармацевтикалық препараттардың қорын ұлғайтады. Сонымен қатар ауыл шаруашылығы мен тамақ өнеркәсібіне өз үлесін қосуға мүмкіндігі зор.

## ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1. Petrovska B. B. Historical review of medicinal plants' usage //Pharmacognosy reviews. – 2012. – Vol. 6. – №. 11. – P.1-5.
2. Wiart C. Ethnopharmacology of medicinal plants: Asia and the Pacific. – Springer Science & Business Media, 2007.
3. Bieski I. G. C. et al. Ethnopharmacology of medicinal plants of the 122mbellat region (Mato Grosso, Brazil) //Evidence-based complementary and alternative medicine. – 2012. – Vol. 2012.
4. Papyrus H. M. A. E. The book of medical knowledge of the 16<sup>th</sup> century BC Egyptians //Arch Hist Filoz Med. – 2004. – Vol. 67. – №. 1. – P. 5-14.
5. Atanasov A. G. et al. Natural products in drug discovery: Advances and opportunities //Nature reviews Drug discovery. – 2021. – Vol. 20. – №. 3. – P. 200-216.
6. Dias D. A., Urban S., Roessner U. A historical overview of natural products in drug discovery //Metabolites. – 2012. – Vol. 2. – №. 2. – P. 303-336.
7. Newman D. J., Cragg G. M., Snader K. M. The influence of natural products upon drug discovery //Natural product reports. – 2000. – Vol. 17. – №. 3. – P. 215-234.
8. Li G., Lou H. X. Strategies to diversify natural products for drug discovery //Medicinal research reviews. – 2018. – Vol. 38. – №. 4. – P. 1255-1294.
9. Firn R. D., Jones C. G. Natural products—a simple model to explain chemical diversity //Natural product reports. – 2003. – Vol. 20. – №. 4. – P. 382-391.
10. Henrich C. J., Beutler J. A. Matching the power of high throughput screening to the chemical diversity of natural products //Natural product reports. – 2013. – Vol. 30. – №. 10. – P. 1284-1298.
11. Meger S. Discovery of penicillin //The American Biology Teacher. – 2011. – Vol. 73. – №. 8. – P. 441-441.
12. Gaynes R. The discovery of penicillin—new insights after more than 75 years of clinical use //Emerging infectious diseases. – 2017. – Vol. 23. – №. 5. – P. 849.
13. Swinney D. C., Anthony J. How were new medicines discovered? //Nature reviews Drug discovery. – 2011. – Vol. 10. – №. 7. – P. 507-519.
14. Mohs R. C., Greig N. H. Drug discovery and development: Role of basic biological research //Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions. – 2017. – Vol. 3. – №. 4. – P. 651-657.
15. Newman D. J., Cragg G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014 //Journal of natural products. – 2016. – Vol. 79. – №. 3. – P. 629-661.

16. Rishton G. M. Natural products as a robust source of new drugs and drug leads: past successes and present day issues //The American journal of cardiology. – 2008. – Vol. 101. – №. 10. – P. S43-S49.
17. Gadano A. B., Gurni A. A., Carballo M. A. Argentine folk medicine: genotoxic effects of Chenopodiaceae family //Journal of Ethnopharmacology. – 2006. – Vol. 103. – №. 2. – P. 246-251.
18. Zaidi S., Khatoon S., Shaukat S. S. Effects of electromagnetic fields on some indigenous plant species-III, Capparaceae and Chenopodiaceae //Pak. J. Bot. – 2012. – Vol. 44. – №. 5. – P. 1733-1739.
19. Boneva V. S., Petkova N. T. Studies on the Bulgarian members of the family Chenopodiaceae s. stricto: a review //BioRisk. – 2022. – Vol. 18. – P.17-34.
20. Павлов Н.В. Флора Казахстана. – Алматы: Академия наук казахской ССР, 1960. – Т 3. – С. 306-311.
21. Panta S. et al. Halophyte agriculture: Success stories //Environmental and experimental botany. – 2014. – Vol. 107. – P.71-83.
22. Ventura Y. et al. The development of halophyte-based agriculture: past and present //Annals of botany. – 2015. – Vol. 115. – №. 3. – P. 529-540.
23. Крылов П.Н. Флора Западной Сибири. – 2014. Выпуск IV, - С. 967.
24. [http://www.efloras.org/flora\\_page.aspx?flora\\_id=2](http://www.efloras.org/flora_page.aspx?flora_id=2)
25. Sun W. et al. Secondary metabolites of *Petrosimonia sibirica* //Chemistry of Natural Compounds. – 2015. – Vol. 51. – P.530-531.
26. Wang Y. et al. Flavonoids and phenolic compounds of *Petrosimonia sibirica* //Chemistry of Natural Compounds. – 2016. – Vol. 52. – P.482-483.
27. Ruwizhi N., Aderibigbe B. A. Cinnamic acid derivatives and their biological efficacy //International journal of molecular sciences. – 2020. – Vol. 21. – №. 16. – P. 5712.
28. Peperidou A. et al. Multifunctional cinnamic acid derivatives //Molecules. – 2017. – Vol. 22. – №. 8. – P. 1247.
29. Куркин В.А. Фенилпропаноиды перспективные природные юиологически активные соединения. – Самара: СамГМУ, 1996. – 80 с.
30. GD de Almeida Lima G. D. et al. Synthesis and antimetastatic activity evaluation of cinnamic acid derivatives containing 1, 2, 3-triazolic portions //Toxicology in Vitro. – 2018. – Vol. 53. – P.1-9.
31. Deng Z. et al. A new cinnamic acid derivative from plant-derived endophytic fungus *Pyronema* sp //Natural product research. – 2017. – Vol. 31. – №. 20. – P. 2413-2419.
32. Chung H. S., Shin J. C. Characterization of antioxidant alkaloids and phenolic acids from anthocyanin-pigmented rice (*Oryza sativa* cv. Heugjinjubyeo) //Food chemistry. – 2007. – Vol. 104. – №. 4. – P.1670-1677.
33. Sova, M. Antioxidant and antimicrobial activities of cinnamic acid derivatives. Mini Rev. Med. Chem. – 2012. – Vol 12. – P. 749–767.

34. Bernini R. et al. Obtaining 4-vinylphenols by decarboxylation of natural 4-hydroxycinnamic acids under microwave irradiation //Tetrahedron. – 2007. – Vol. 63. – №. 39. – P. 9663-9667.
35. Godoy M. E. et al. Antiinflammatory activity of cinnamic acid esters //Molecules. – 2000. – Vol. 5. – №. 3. – P. 547-548.
36. King R. R., Calhoun L. A. Characterization of cross-linked hydroxycinnamic acid amides isolated from potato common scab lesions //Phytochemistry. – 2005. – Vol. 66. – №. 20. – P. 2468-2473.
37. Yahagi T. et al. New Feruloyl Tyramine Glycosides from *Stephania hispidula* Y AMAMOTO //Chemical and Pharmaceutical Bulletin. – 2010. – Vol. 58. – №. 3. – P. 415-417.
38. Cativiela C. et al. Heterogeneous catalysis in the synthesis and reactivity of allantoin //Green Chemistry. – 2003. – Vol. 5. – №. 2. – P. 275-277.
39. Bakibaev A. A. et al. Allantoin: Synthesis and chemical properties //Вестник Карагандинского университета. Серия: Химия. – 2020. – №. 1. – P. 7-21.
40. Kahn K., Tipton P. A. Kinetics and mechanism of allantoin racemization //Bioorganic Chemistry. – 2000. – Vol. 28. – №. 2. – P. 62-72.
41. Cova M. G. et al. Isolation and chemical characterization of allantoin from flowers of *Cordia alba* (Jacq) //Saber. – 2016. – Vol. 28. – №. 4. – P. 775-783.
42. Patching S. G. Synthesis of highly pure <sup>14</sup>C-labelled DL-allantoin and <sup>13</sup>C NMR analysis of labelling integrity //Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals: The Official Journal of the International Isotope Society. – 2009. – Vol. 52. – №. 9. – P. 401-404.
43. Lakshmanan G. et al. Isolation and structural elucidation of allantoin a bioactive compound from *Cleome viscosa* L.: A combined experimental and computational investigation //Pharmacognosy Journal. – 2019. – Vol. 11. – №. 6. – P. 1391-1400.
44. Dinica R. M. et al. Allantoin from Valuable Romanian Animal and Plant Sources with Promising Anti-Inflammatory Activity as a Nutricosmetic Ingredient //Sustainability. – 2021. – Vol. 13. – №. 18. – P. 10170.
45. Atanasov A. G. et al. Natural products in drug discovery: Advances and opportunities //Nature reviews Drug discovery. – 2021. – Vol. 20. – №. 3. – P. 200-216.
46. Anderson J. et al. Analytical separation science //John Wiley & Sons, – 2016. – Vol. 5.
47. Kuehnbaum N. L., Britz-McKibbin P. New advances in separation science for metabolomics: resolving chemical diversity in a post-genomic era //Chemical reviews. – 2013. – Vol. 113. – №. 4. – P. 2437-2468.
48. Cutillo F. et al. Cinnamic acid amides from *Chenopodium album*: effects on seeds germination and plant growth //Phytochemistry. – 2003. – Vol. 64. – №. 8. – P. 1381-1387.

49. Khan K. M. et al. Three tyrosinase inhibitors and antioxidant compounds from *Salsola foetida* // *Helvetica chimica acta*. – 2003. – Vol. 86. – №. 2. – P. 457-464.
50. Lee D. G. et al. Anti-fungal effects of phenolic amides isolated from the root bark of *Lycium chinense* // *Biotechnology letters*. – 2004. – Vol. 26. – P. 1125-1130.
51. DellaGreca M. et al. Cinnamic acid amides and lignanamides from *Aptenia cordifolia* // *Tetrahedron*. – 2006. – Vol. 62. – №. 12. – P. 2877-2882.
52. Othman A. et al. Bassiamide A, a new alkaloid from xero-halophyte *Bassia indica* Wight // *Natural Product Research*. – 2022. – Vol. 36. – №. 14. – P. 3610-3618.
53. Seo G. W. et al. Isolation and identification of cinnamic acid amides as antioxidants from *Allium fistulosum* L. and their free radical scavenging activity // *Food Science and Biotechnology*. – 2011. – Vol. 20. – P. 555-560.
54. Bojarová P., Křen V. Glycosidases: a key to tailored carbohydrates // *Trends in biotechnology*. – 2009. – Vol. 27. – №. 4. – P. 199-209.
55. Ellgaard L., Helenius A. Quality control in the endoplasmic reticulum // *Nature reviews Molecular cell biology*. – 2003. – Vol. 4. – №. 3. – P. 181-191.
56. Phillips B. P., Gomez-Navarro N., Miller E. A. Protein quality control in the endoplasmic reticulum // *Current opinion in cell biology*. – 2020. – Vol. 65. – P. 96-102.
57. Van de Laar F. A. et al. Alpha-glucosidase inhibitors for type 2 diabetes mellitus // *Cochrane database of systematic reviews*. – 2005. – №. 2.
58. Song Y. H. et al. Cinnamic acid amides from *Tribulus terrestris* displaying uncompetitive  $\alpha$ -glucosidase inhibition // *European journal of medicinal chemistry*. – 2016. – Vol. 114. – P. 201-208.
59. Sova M. Antioxidant and antimicrobial activities of cinnamic acid derivatives // *Mini reviews in medicinal chemistry*. – 2012. – Vol. 12. – №. 8. – P. 749-767.
60. Guzman J. D. Natural cinnamic acids, synthetic derivatives and hybrids with antimicrobial activity // *Molecules*. – 2014. – Vol. 19. – №. 12. – P. 19292-19349.
61. Cutillo F. et al. Chenoalbicin, a novel cinnamic acid amide alkaloid from *Chenopodium album* // *Chemistry & biodiversity*. – 2004. – Vol. 1. – №. 10. – P. 1579-1583.
62. Ismail B., Nielsen S. S. Basic principles of chromatography // *Food analysis*. – 2010. – Vol. 27. – P. 473-498.
63. Nägele E., Huber U. Method scale-up from analytical to preparative scale with the Agilent 1100 Series purification system PS. – Agilent Technologies Application Note 5988-6979EN, 2002.
64. Euerby M. R., Petersson P. Chromatographic classification and comparison of commercially available reversed-phase liquid chromatographic columns using principal component analysis // *Journal of Chromatography A*. – 2003. – Vol. 994. – №. 1-2. – P. 13-36.



65. Stavriani A. A classification of liquid chromatography mass spectrometry techniques for evaluation of chemical composition and quality control of traditional medicines //Journal of chromatography A. – 2020. – Vol. 1609. – P. 460501.
66. Huber U. Solutions for preparative HPLC–Application Compendium //Agilent Technologies Application. – 2006.
67. Shen Y., Chen B., van Beek T. A. Alternative solvents can make preparative liquid chromatography greener //Green Chemistry. – 2015. – Vol. 17. – №. 7. – P. 4073-4081.
68. Colin H. Large-scale high-performance preparative liquid chromatography //Preparative and Production Scale Chromatography. – CRC Press, 2019. – P. 11-46.
69. Bennett R. et al. Mapping the separation landscape of pharmaceuticals: rapid and efficient scale-up of preparative purifications enabled by computer-assisted chromatographic method development //Organic Process Research & Development. – 2019. – Vol. 23. – №. 12. – P. 2678-2684.
70. Hansen E. B. Chromatographic scale-up on a volume basis //Preparative chromatography for separation of proteins. – 2017. – P. 227-246.
71. Guiochon G. Preparative liquid chromatography //Journal of Chromatography A. – 2002. – Vol. 965. – №. 1-2. – P. 129-161.
72. Qiu Y. K. et al. Two-dimensional preparative liquid chromatography system for preparative separation of minor amount components from complicated natural products //Analytica Chimica Acta. – 2014. – Vol. 820. – P. 176-186.
73. Wellings D. A. A practical handbook of preparative HPLC. – Elsevier, 2011.
74. Horváth K., Felinger A. Influence of particle size and shell thickness of core–shell packing materials on optimum experimental conditions in preparative chromatography //Journal of Chromatography A. – 2015. – Vol. 1407. – P. 100-105.
75. Brandt A., Kueppers S., Majors R. Practical aspects of preparative HPLC in pharmaceutical development and production //LC GC NORTH AMERICA. – 2002. – Vol. 20. – №. 1. – P. 14-22.
76. Sardella R. et al. Laboratory-scale preparative enantioseparations of pharmaceutically relevant compounds on commercially available chiral stationary phases for HPLC //Current Medicinal Chemistry. – 2017. – Vol. 24. – №. 8. – P. 796-817.
77. Fan L. I. U. et al. Methods for Cleaning and Regeneration of High Performance Liquid Chromatographic Columns //分析测试技术与仪器. – 2010. – Vol. 16. – №. 2. – P. 71-77.
78. Moritz R. Innovative fraction collection with the Agilent 1100 Series purification platform. – Agilent Technologies Application Note 5988-9250EN, 2003.
79. Parriott D. (ed.). A Practical guide to HPLC detection. – Academic Press, 2012.

80. Munjanja B., Sanganyado E. UV-Visible Absorption, Fluorescence, and Chemiluminescence Spectroscopy //Handbook of Food Analysis. – 2015. – Vol. 31. – P. 572-583.
81. Zhang B., Li X., Yan B. Advances in HPLC detection—towards universal detection //Analytical and bioanalytical chemistry. – 2008. – Vol. 390. – P. 299-301.
82. Prolo C. et al. Fluorescence and chemiluminescence approaches for peroxyxynitrite detection //Free Radical Biology and Medicine. – 2018. – Vol. 128. – P. 59-68.
83. Swartz M. HPLC detectors: a brief review //Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies. – 2010. – Vol. 33. – №. 9-12. – P. 1130-1150.
84. Huber U. Peak-based fraction collection with the Agilent 1100 Series purification system AS—Influence of delay volume on recovery. – Agilent Technologies Application Note 5988-5746EN, 2002.
85. Gaber Y. et al. HPLC-EAT (Environmental Assessment Tool): a tool for profiling safety, health and environmental impacts of liquid chromatography methods //Green chemistry. – 2011. – Vol. 13. – №. 8. – P. 2021-2025.
86. Caputo M. et al. Lego 127mbellate127 fraction collector: a low-cost tool for a preparative high-performance liquid chromatography system //Analytical chemistry. – 2019. – Vol. 92. – №. 2. – P. 1687-1690.
87. Huber U. Sophisticated peak-based fraction collection—working with up and down slope. – Agilent Technologies Application Note 5989-0511EN, 2004.
88. Moritz R., Huber U. Mass-based fraction collection of compound libraries using the Agilent 1100 Series purification system. – Agilent Technologies Application Note 5988-7112EN, 2002.
89. Rosentreter U., Huber U. Optimal fraction collecting in preparative LC/MS //Journal of Combinatorial Chemistry. – 2004. – Vol. 6. – №. 2. – P. 159-164.
90. Rosentreter, U., Huber, U. Purification of pharmaceutical drugs by mass-based fraction collection at higher flow rates. – Agilent Technologies Application Note 5988-7113EN, 2002.
91. McConnell, D., Lubich, P., Egger, G., Huber, U. Development of a compound purification strategy for a medicinal chemistry group. – Agilent Technologies Application Note 5989-0055EN, 2003.
92. Nägele, E., Huber, U. Isolation of formononetin and other phytoestrogens from red clover with the Agilent 1100 Series purification system. – Agilent Technologies Application Note 5988-5747EN, 2002.
93. Pereda S., Bottini S. B., Brignole E. A. Fundamentals of supercritical fluid technology. – 2007.
94. Amaral G. V. et al. Dairy processing using supercritical carbon dioxide technology: Theoretical fundamentals, quality and safety aspects //Trends in Food Science & Technology. – 2017. – Vol. 64. – P. 94-101.

95. Martín A., Cocero M. J. Micronization processes with supercritical fluids: fundamentals and mechanisms //Advanced drug delivery reviews. – 2008. – Vol. 60. – №. 3. – P. 339-350.
96. Bin L. K. et al. Supercritical fluid technology and its pharmaceutical applications: A revisit with two decades of progress //Indian J. Pharm. Educ. Res. – 2020. – Vol. 54. – P. s1-s11.
97. Kiran E., Debenedetti P. G., Peters C. J. (ed.). Supercritical fluids: fundamentals and applications. – Springer Science & Business Media, 2012. – Vol. 366.
98. Ameer K., Shahbaz H. M., Kwon J. H. Green extraction methods for polyphenols from plant matrices and their byproducts: A review //Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. – 2017. – Vol. 16. – №. 2. – P. 295-315.
99. Лундин А. А. и др. Сверхкритические флюиды: теория и практика //Сверхкритические флюиды: Теория и практика Учредители: ЗАО» ШАГ». – 2022. – Т. 17. – №. 2. – С. 37-54.
100. McHugh M., Krukoniš V. Supercritical fluid extraction: principles and practice. – Elsevier, 2013.
101. Herrero M. et al. Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications //Journal of Chromatography a. – 2010. – Vol. 1217. – №. 16. – P. 2495-2511.
102. Da Silva R. P. F. F., Rocha-Santos T. A. P., Duarte A. C. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds //TrAC Trends in Analytical Chemistry. – 2016. – Vol. 76. – P.40-51.
103. Yoon T. J., Lee Y. W. Current theoretical opinions and perspectives on the fundamental description of supercritical fluids //The Journal of Supercritical Fluids. – 2018. – Vol. 134. – P. 21-27.
104. Sapkale G. N. et al. Supercritical fluid extraction //Int. J. Chem. Sci. – 2010. – Vol. 8. – №. 2. – P. 729-743.
105. Badens E. et al. Current situation and perspectives in drug formulation by using supercritical fluid technology //The Journal of Supercritical Fluids. – 2018. – Vol. 134. – P. 274-283.
106. Manjare S. D., Dhingra K. Supercritical fluids in separation and purification: A review //Materials Science for Energy Technologies. – 2019. – Vol. 2. – №. 3. – P. 463-484.
107. Carlès P. A brief review of the thermophysical properties of supercritical fluids //The Journal of Supercritical Fluids. – 2010. – Vol. 53. – №. 1-3. – P. 2-11.
108. Knez Ž., Škerget M., KnezHrnčič M. Principles of supercritical fluid extraction and applications in the food, beverage and nutraceutical industries //Separation, extraction and concentration processes in the food, beverage and nutraceutical industries. – Woodhead publishing, 2013. – P. 3-38.
109. Girotra P., Singh S. K., Nagpal K. Supercritical fluid technology: a promising approach in pharmaceutical research //Pharmaceutical development and technology. – 2013. – Vol. 18. – №. 1. – P. 22-38.

110. Zhou J. et al. The application of supercritical fluids technology to recover healthy valuable compounds from marine and agricultural food processing by-products: A review //Processes. – 2021. – Vol. 9. – №. 2. – P. 357.
111. Pereira C. G., Meireles M. A. A. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds: fundamentals, applications and economic perspectives //Food and Bioprocess Technology. – 2010. – Vol. 3. – P. 340-372.
112. Kankala R. K. et al. Supercritical fluid technology: an emphasis on drug delivery and related biomedical applications //Advanced healthcare materials. – 2017. – Vol. 6. – №. 16. – P. 1700433.
113. Knez Ž. Et al. Are supercritical fluids solvents for the future? //Chemical Engineering and Processing-Process Intensification. – 2019. – Vol. 141. – P. 107532.
114. Santiago M., Strobel S. Thin layer chromatography //Methods in enzymology. – Academic Press, 2013. – Vol. 533. – P. 303-324.
115. Государственная Фармакопея РК. – 2008. – Т.1. – 591 с.
116. Государственная Фармакопея РК. – 2009. – Т.2. – 802 с.
117. Ferré S. et al. Analytical strategies for the determination of amino acids: Past, present and future trends //Journal of Chromatography B. – 2019. – Vol. 1132. – P. 121819.
118. Peace R. W., Gilani G. S. Chromatographic determination of amino acids in foods //Journal of AOAC International. – 2005. – Vol. 88. – №. 3. – P. 877-887.
119. Simionato J. I. et al. Validation of the determination of fatty acids in milk by gas chromatography //Journal of the Brazilian Chemical Society. – 2010. – Vol. 21. – P.520-524.
120. Cho S., Lee H. S., Franzblau S. Microplate alamar blue assay (MABA) and low oxygen recovery assay (LORA) for Mycobacterium tuberculosis //Mycobacteria protocols. – 2015. – P.281-292.
121. Zhao P. et al. Susceptibility profiles of Nocardia spp. To antimicrobial and antituberculous agents detected by a microplate Alamar Blue assay //Scientific reports. – 2017. – Vol. 7. – №. 1. – P. 43660.
122. Elkhatib W. F., Khairalla A. S., Ashour H. M. Evaluation of different microtiter plate-based methods for the quantitative assessment of Staphylococcus aureus biofilms //Future Microbiology. – 2014. – Vol. 9. – №. 6. – P. 725-735.
123. Verma S. Medicinal plants with anti-inflammatory activity //J. Phytopharmacol. – 2016. – Vol. 5. – №. 4. – P.157-159.
124. Saleem T. K. M. et al. Anti-inflammatory activity of the leaf extracts of Gendarussa vulgaris Nees //Asian Pacific journal of tropical biomedicine. – 2011. – Vol. 1. – №. 2. – P. 147-149.
125. Kardile M. V. et al. Membrane stabilization assay for anti-inflammatory activity yields false positive results for samples containing traces of ethanol and methanol //World journal of pharmacy and pharmaceutical Sciences. – 2016. – Vol. 5. – №. 3. – P. 493-497.
126. Yoganandam G. P. et al. Evaluation of anti-inflammatory and membrane stabilizing properties of various extracts of Punica granatum L.(Lythraceae)

//International Journal of PharmTech Research. – 2010. – Vol. 2. – №. 2. – P. 1260-1263.

127. Sarveswaran R., Jayasuriya W., Suresh T. S. In vitro assays to investigate the anti-inflammatory activity of herbal extracts a review. – 2017.

128. Nurpeisova D.S., Toktarbek M., Seitimova G.A., Yeskaliyeva B.K., Burasheva G.Sh., Choudhary M. Iqbal. Phytochemical analysis of *Petrosimonia sibirica* grown in Kazakhstan // International Journal of Biology and Chemistry – 2018. – Vol. 11. - №. 2. – P. 314-318, IRSTI 31.23.99

129. Тоқтарбек М., Сейтимова Г.А., Есқалиева Б.Қ., Бурашева Г.Ш., Choudhary M. Iqbal. *Petrosimonia glaucescens* өсімдік түріндегі май- және амин қышқылдары // Вестник КазНМУ, рекомендуемый ККСОК МОН РК – 2019. - №. 4. – Б. 324-328

130. Сейтимова Г.А., Тоқтарбек М., Есқалиева Б.Қ., Бурашева Г.Ш., Choudhary M. Iqbal. Фитохимический анализ некоторых казахстанских видов растения рода *Petrosimonia*, семейства маревых (*Chenopodiaceae*) // Химия растительного сырья, – 2022. - №4. – Ст. 241-248

131. Calder P. C. Functional roles of fatty acids and their effects on human health //Journal of parenteral and enteral nutrition. – 2015. – Vol. 39. – P. 18S-32S.

132. Czumaj A., Śledziński T. Biological role of unsaturated fatty acid desaturases in health and disease //Nutrients. – 2020. – Vol. 12. – №. 2. – P. 356.

133. Weyh C. et al. The role of minerals in the optimal functioning of the immune system //Nutrients. – 2022. – Vol. 14. – №. 3. – P. 644.

134. Lall S. P. The minerals //Fish nutrition. – Academic Press, 2022. – P. 469-554.

135. Zhang W. et al. A new triterpenoid from *Entodon okamurae* Broth //Journal of Asian natural products research. – 2003. – Vol. 5. – №. 3. – P. 189-195.

136. Chen J. J. et al. seco-Abietane diterpenoids, a phenylethanoid derivative, and antitubercular constituents from *Callicarpa pilosissima* //Journal of natural products. – 2009. – Vol. 72. – №. 2. – P. 223-228.

137. Pierre L. L., Moses M. N. Isolation and 130mbellate130zation of stigmaterol and  $\beta$ -sitosterol from *Odontonema strictum* (acanthaceae) //Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences. – 2015. – Vol. 2. – №. 1. – P. 88-95.

138. Matsumori N. et al. Direct interaction between amphotericin B and ergosterol in lipid bilayers as revealed by 2H NMR spectroscopy //Journal of the American Chemical Society. – 2009. – Vol. 131. – №. 33. – P. 11855-11860.

139. Elbahrawy S., Motaal A., Abdallah O. Development and Validation of Novel Gas Chromatography (GC) and Thin Layer Chromatography (TLC) Densitometry Methods for the Quantification of Stigmaterol 3-O- $\beta$ -D-Glucopyranoside (S3G) in *Balanites Aegyptiaca* Extract: Application to Newly Formulated *Balanites* Capsules //LCGC North America. – 2021. – Vol. 39. – №. 8. – P. 384–389.

140. Vitus A. Nyigo, Xolani Peter, Faith Mabiki, Hamisi M. Malebo, Robinson H. Mdegela, Gerda Fouche. Isolation and identification of euphol and  $\beta$ -

sitosterol from the dichloromethane extracts of *Synadenium glaucescens* // *The Journal of Phytopharmacology*, 2016. – Vol. 5. - №. 3. – P. 100-104

141. Arora M., Kalia A. N. Isolation and characterization of stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol-D-glycoside from ethanolic extract of the stems of *Salvadora persica* linn // *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. – 2013. – Vol. 5. – №. 1. – P. 245-249.

142. Wang M. et al. Source identification of vanillin in sesame oil by HPLC-MS/MS // *Food Control*. – 2023. – Vol. 143. – P. 109283.

143. Chang T. K. H., Chen J., Yeung E. Y. H. Effect of *Ginkgo biloba* extract on procarcinogen-bioactivating human CYP1 enzymes: identification of isorhamnetin, kaempferol, and quercetin as potent inhibitors of CYP1B1 // *Toxicology and applied pharmacology*. – 2006. – Vol. 213. – №. 1. – P. 18-26.

144. Toktarbek M. et al. Phenolic Compounds from the Plant *Petrosimonia triandra* // *Chemistry of Natural Compounds*. – 2021. – Vol. 57. – №. 3. – P. 536-538.

145. Dehaghani Z. A., Asghari G., Dinani M. S. Isolation and identification of nicotiflorin and narcissin from the aerial parts of *Peucedanum aucheri* Boiss // *J. Agric. Sci. Technol. A*. – 2017. – Vol. 7. – P. 45-51.

146. Süntar I. P. et al. Wound healing potential of *Sambucus ebulus* L. leaves and isolation of an active component, quercetin 3-O-glucoside // *Journal of ethnopharmacology*. – 2010. – Vol. 129. – №. 1. – P. 106-114.

147. Toktarbek M., Seitimova G. A., Eskaliev B. K., Burasheva G. Sh., Ahmet Beyatli, and Choudhary M. Iqbal. Sterols and flavonoids from the pelitohalophytes *Petrosimonia glaucescens* and *Climacoptera brachiata* // *Chemistry of Natural Compounds*, 2019. – Vol. 55. - №. 3. – P. 547-548.

148. Zhou X. et al. Separation and purification of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from *Polygonatum odoratum* by stepwise high-speed counter-current chromatography combined with Sephadex LH-20 chromatography target-guided by ultrafiltration–HPLC screening // *Journal of Chromatography B*. – 2015. – Vol. 985. – P. 149-154.

149. Nusan S. et al.  $\beta$ -N-trans-feruloyloctopamine from the root timber of *Melochia 131mbellate* (Houtt.) Stapf var. *Visenia* (Paliasa) // *Journal of Physics: Conference Series*. – IOP Publishing, 2019. – Vol. 1341. – №. 3. – P. 032021.

150. Othman A. et al. Bassiamide A, a new alkaloid from xero-halophyte *Bassia indica* Wight // *Natural Product Research*. – 2022. – Vol. 36. – №. 14. – P. 3610-3618.

151. Ding S. et al. Absolute configurations of spiroiminodihydantoin and allantoin stereoisomers: comparison of computed and measured electronic circular dichroism spectra // *Chemical research in toxicology*. – 2009. – Vol. 22. – №. 6. – P. 1189-1193.

152. Patching S. G. Synthesis of highly pure  $^{14}\text{C}$ -labelled DL-allantoin and  $^{13}\text{C}$  NMR analysis of labelling integrity // *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals: The Official Journal of the International Isotope Society*. – 2009. – Vol. 52. – №. 9. – P. 401-404.



# ҚОСЫМША А

**ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ**      **РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН**

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

**ПАТЕНТ**  
**PATENT**

№ 7680

**ПАЙДАЛЫ МОДЕЛЬГЕ / НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ / FOR UTILITY MODEL**



(21) 2022/0698.2



(22) 15.08.2022



(45) 23.12.2022

(54) Бактерияға қарсы әсер көрсететін дәрілік зат алудың тәсілі  
Способ получения средства с антибактериальным действием  
Method of producing an agent with antibacterial action

(73) «Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті» коммерциялық емес акционерлік қоғамы (KZ)  
Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный университет имени Аль-Фараби» (KZ)  
«Al-Farabi Kazakh National University» Non-profit Joint Stock Company (KZ)

(72) Токтарбек Меруерткожа (KZ)	Toktarbek Meruyertkozha (KZ)
Сейтимова Гульназ Абсаттаровна (KZ)	Seitimova Gulnaz Absattarovna (KZ)
Кипчакбаева Алия Куанышовна (KZ)	Kipchakbayeva Aliya Kuanyshovna (KZ)
Бурашева Гаухар Шахмановна (KZ)	Burasheva Gaukhar Shahmanovna (KZ)
Мухаммад Икбал Чаудри (PK)	Muhammad Iqbal Choudhary (PK)



ЭЦК кол койылды  
Подписано ЭЦП  
Signed with EDS

Е. Оспанов  
Е. Оспанов  
Y. Ospanov

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМҚ директоры  
Директор РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности»  
Director of the «National Institute of Intellectual Property» RSE





РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) KZ (13) U (11) 7680  
(51) A61K 36/00 (2006.01)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

## ОПИСАНИЕ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(21) 2022/0698.2

(22) 15.08.2022

(45) 23.12.2022, бюл. №51

(72) Токтарбек Меруертқожа; Сейтимова Гульназ Абсаттаровна; Кипчакбаева Алия Куанышовна; Бурашева Гаухар Шахмановна; Мухаммад Икбал Чаудри

(73) Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный университет имени аль-Фараби»

(56) RU 2067452 C1, 10.10.1996

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ СРЕДСТВА С АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

(57) Полезная модель относится к области фармации и химии биологически активных веществ, и касается способов выделения биологически активных веществ и комплексов из растительного сырья, обладающих антибактериальным действием.

Задачей полезной модели является разработка способа получения средства, обладающего антибактериальной активностью, из растительного измельченного сырья – петросимония трехтычинковая (*Petrosimonia triandra*), которую




помещают в патрон из полимерного тканого материала (возможно многоразовое использование) и вносят в аппарат для сверхкритической флюидной экстракции. Сырье подвергают обработке сверхкритической флюидной CO<sub>2</sub>-экстракцией при 180 bar, затем шрот экстрагируют 80%-ным водно-этиловым спиртом при соотношении 1:6, в течение 6 часов, при комнатной температуре, дважды, вытяжки объединяют, концентрируют под вакуумом при температуре 45-50°C, концентрат последовательно экстрагируют этилацетатом и бутанолом. Этилацетатный экстракт концентрируют досуха на ротормном испарителе при температуре 50-55°C, получают конечный продукт.

Полученное средство представляет собой порошок светло желтого цвета, растворим в водно-этиловом спирте. Растворитель и время экстракции являются оптимальными, так как экстрагируется до 60% биологически активных веществ. В этилацетатном экстракте (*Petrosimonia triandra*), обнаружены флавоноиды и алкалоиды. Полученный комплекс проявляет антибактериальную активность.

(19) KZ (13) U (11) 7680



## ҚОСЫМША Б

Sample Code No. ③ (Ethyl acetate)

**INTERNATIONAL CENTER FOR CHEMICAL AND BIOLOGICAL SCIENCES**  
**H.E.J. RESEARCH INSTITUTE OF CHEMISTRY AND**  
**DR. PANJWANI CENTER FOR MOLECULAR MEDICINE AND DRUG RESEARCH**  
**UNIVERSITY OF KARACHI**

**Microplate Alamar Blue Assay (MABA)**  
**(Preliminary Screening)**

Date: 17-12-2019

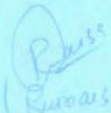
Submitted By: Tohtarbek Muzgetkocha Lab. No: 212 Tel. No.: 126  
Prof. Dr. M. Saibal


Name of Supervisor: Saibal Institution: Tohtarbek

Name of Bacteria	Percent (%) Inhibition of Compound	Percent (%) Inhibition of Drug
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	No inhibition	90.8%
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 23857	No inhibition	88.96%
<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 6571	74.24%	88.85% ✓
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	No inhibition	94.1%
<i>Salmonella typhi</i> ATCC 14028	No inhibition	89.83%

Keys: Amount of Compound 60 mg Amount of Drug 10 mg  
 Concentration of Compound 3000 µg/ml Concentration of Drug 50 µg/ml



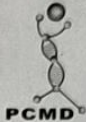
Remarks:  
Sample showed significant inhibition against S. aureus only!

  
 Evaluated By

  
 Section Incharge

Б – Сурет. *Petrosimonia* өсімдігінен алынған этилацетат экстрактісінің бактерияға қарсы белсенділік нәтижесі

## ҚОСЫМША В

**INTERNATIONAL CENTER FOR CHEMICAL AND BIOLOGICAL SCIENCES**  
**H.E.J. RESEARCH INSTITUTE OF CHEMISTRY AND**  
**DR. PANJWANI CENTER FOR MOLECULAR MEDICINE AND DRUG RESEARCH**  
**THIRD WORLD CENTER**  
**UNIVERSITY OF KARACHI**

**RESULTS OF IMMUNOMODULATORY/CYTOTOXICITY STUDIES**

Submitted By: Merutestkozha Date: 4/12/19  
 Lab. No/intercom No: .....

Name of Supervisor: Dr. Iqbal Institution: .....

Name of Assay: Immunomodulatory Amount Used (mg): 1mg

**Proposed Implications of the Immunomodulatory/Cytotoxicity Activity:**  
 .....  
 .....  
 .....

Sample Code	Conc. (mg/ml)	% Inhibition/Stimulation	IC <sub>50</sub> ± SD
Hexane	"	43.2	-
DCM	"	96.7	14.1 ± 0.3
EtOAc	"	87.3	19.7 ± 3.3
Water	"	4.0	-
Buramol	"	13.1	-

Remarks: Samples 2 and 3 showed moderate inhibition  
 .....  
 .....

Evaluated By: Latina Section Incharge: .....

**Note:** These studies are done on collaborative basis; both collaborators will share data for relevant publication.

В – Сурет. *Petrosimonia* өсімдігінен алынған этилацетат және гексан экстрактілерінің қабынуға қарсы белсенділік нәтижесі

# ҚОСЫМША Г

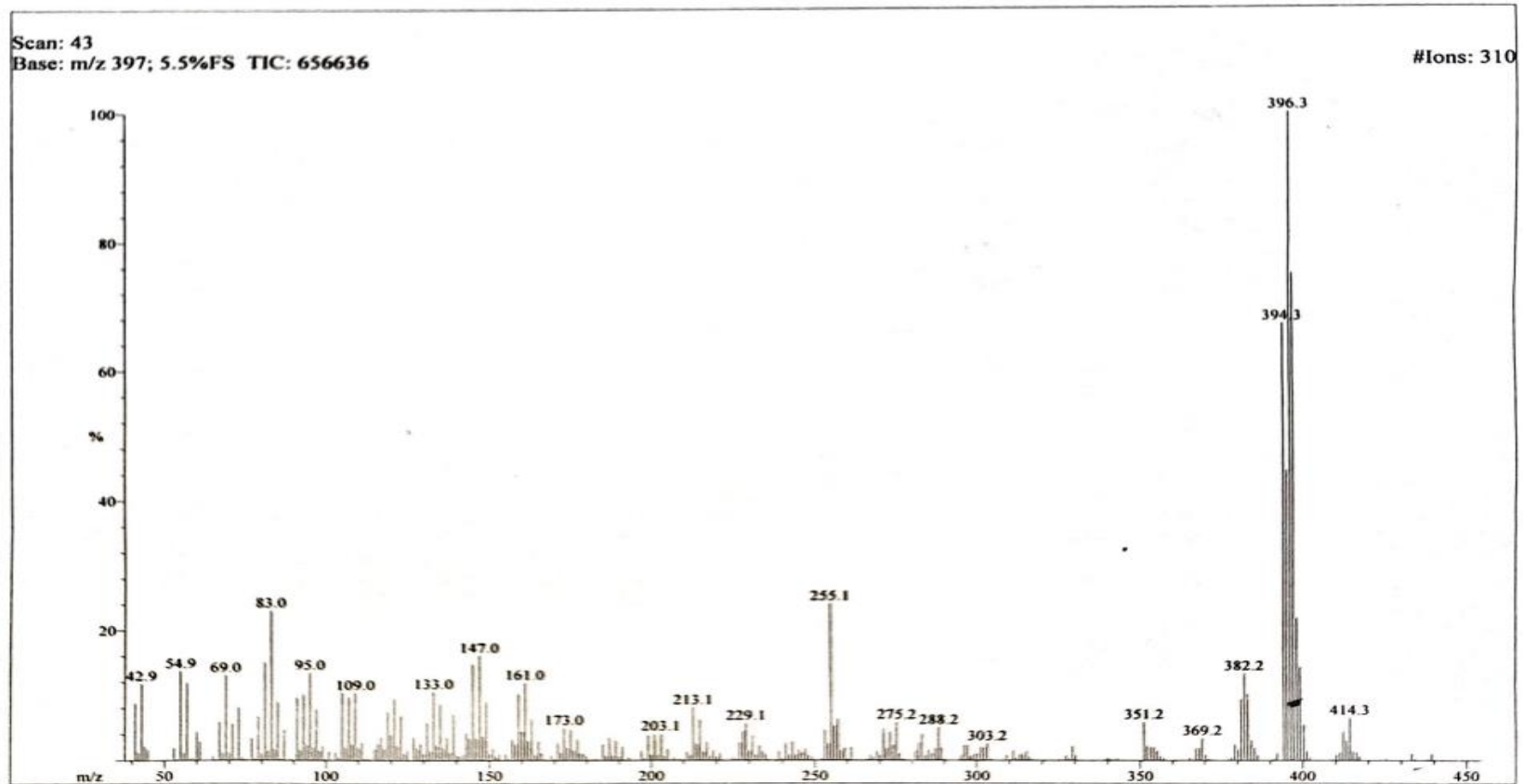
HEJ-ICCBS  
3/2/2020 12:50:49 PM

File: H-68  
Sample: MERUYERTKOZHA /DR. IQBAL  
Instrument: JEOL 600H-1  
Inlet: Direct Probe

Date Run: 03-02-2020 (Time Run: 12:40:19)

Run By: MASS LAB-104

Ionization mode: EI+



Г – Сурет.  $\beta$ -Ситостеролдың EI-MS спектрі (6-зат)



# ҚОСЫМША Ғ

2/6/2020 3:05:02 PM

File: DF-70  
Sample: MERUYERTKOZHA /DR. IQBAL  
Instrument: JEOL 600H-1  
Inlet: Direct Probe

Date Run: 02-06-2020 (Time Run: 14:53:48)

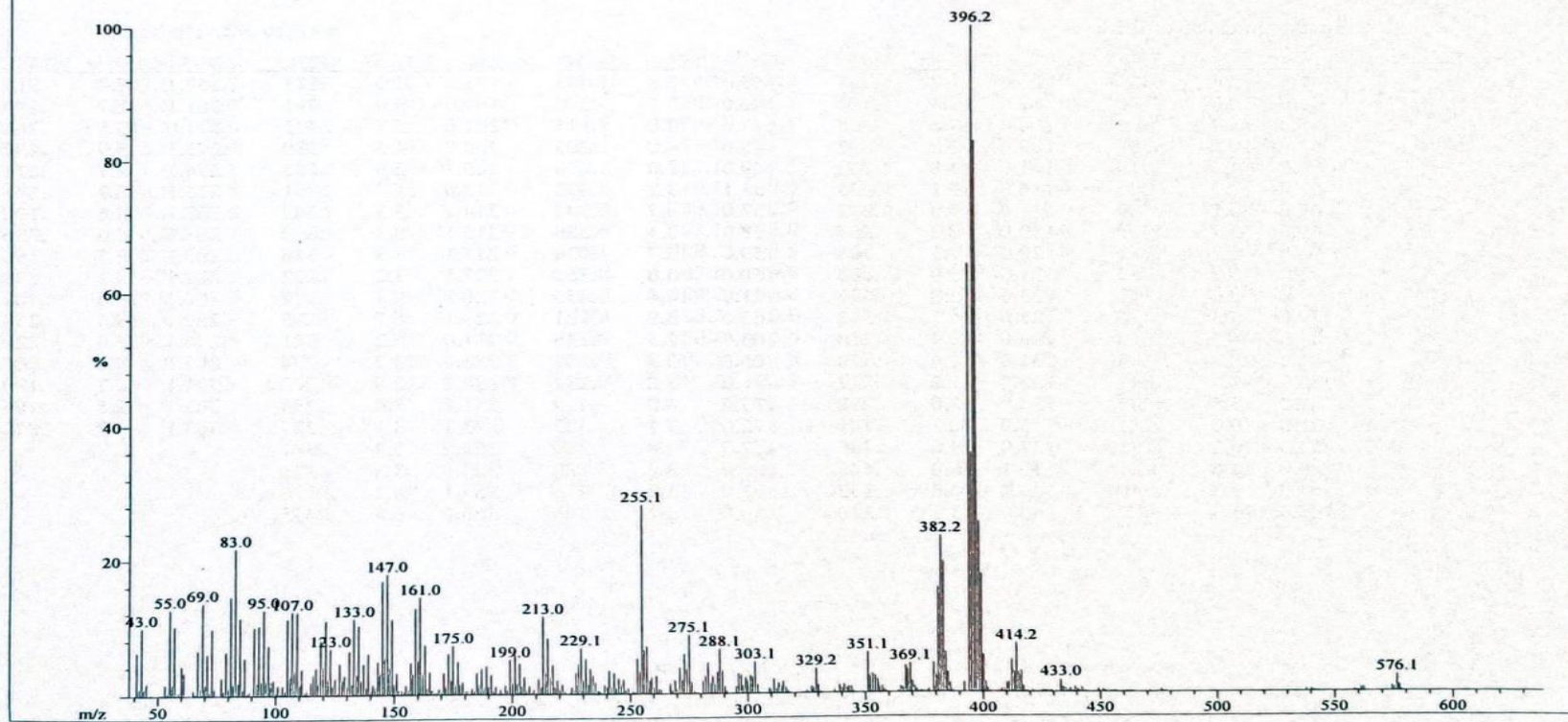
Run By: MASS LAB-104

Ionization mode: EI+

Scan: 37

Base: m/z 396; 24.6%FS TIC: 3514216

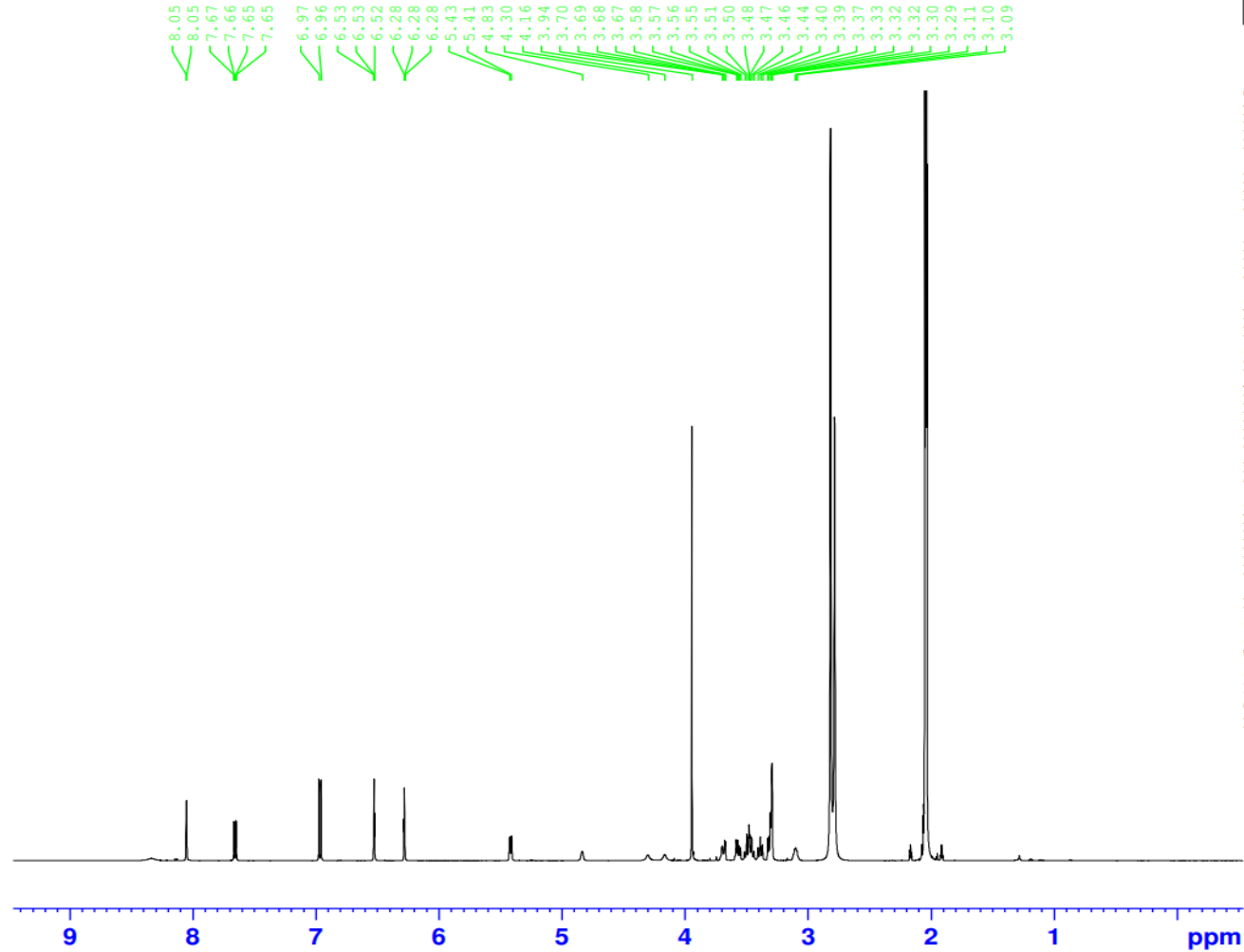
#Ions: 548



Ғ – Сурет.  $\beta$ -Ситостеролдың 3-O-  $\beta$ -D-глюкопиранозидінің EI-MS спектрі (8-зат)

# ҚОСЫМША Д1

MERUYERKHOZHA/DR. IQBAL/EF 95/C3D60  
1H



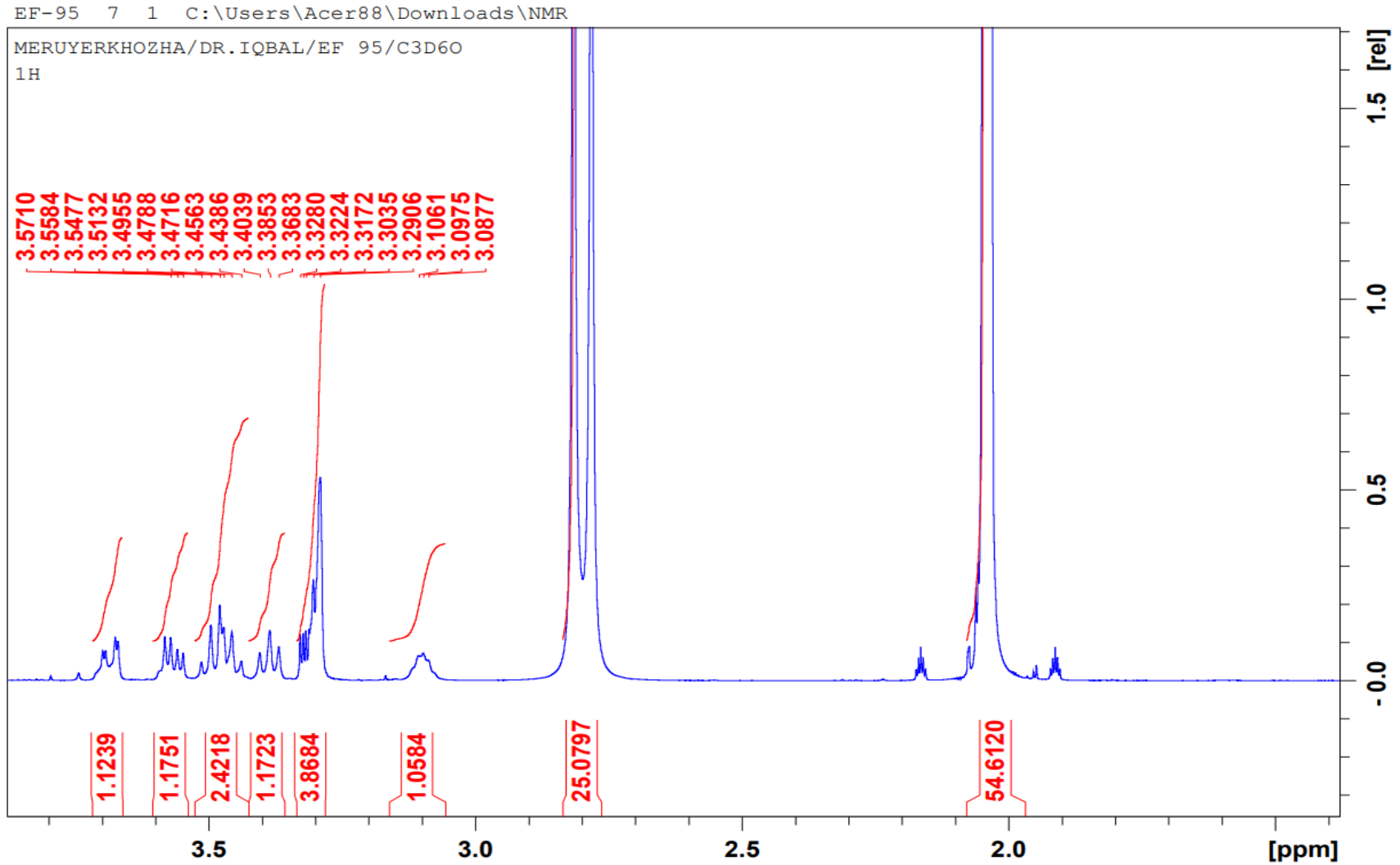
Current Data Parameters  
NAME EF-95  
EXPNO 7  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20200121  
Time 14.13 h  
INSTRUM AVNeo500MHz  
PROBHD Z859201\_0007 (  
PULPROG zg30  
TD 65536  
SOLVENT Acetone  
NS 128  
DS 0  
SWH 10000.000 Hz  
FIDRES 0.305176 Hz  
AQ 3.2767999 sec  
RG 101  
DW 50.000 usec  
DE 11.31 usec  
TE 300.0 K  
D1 1.50000000 sec  
TD0 1  
SFO1 500.1340010 MHz  
NUC1 1H  
P0 2.33 usec  
P1 7.00 usec  
PLW1 17.96400070 W

F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 500.1300134 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00

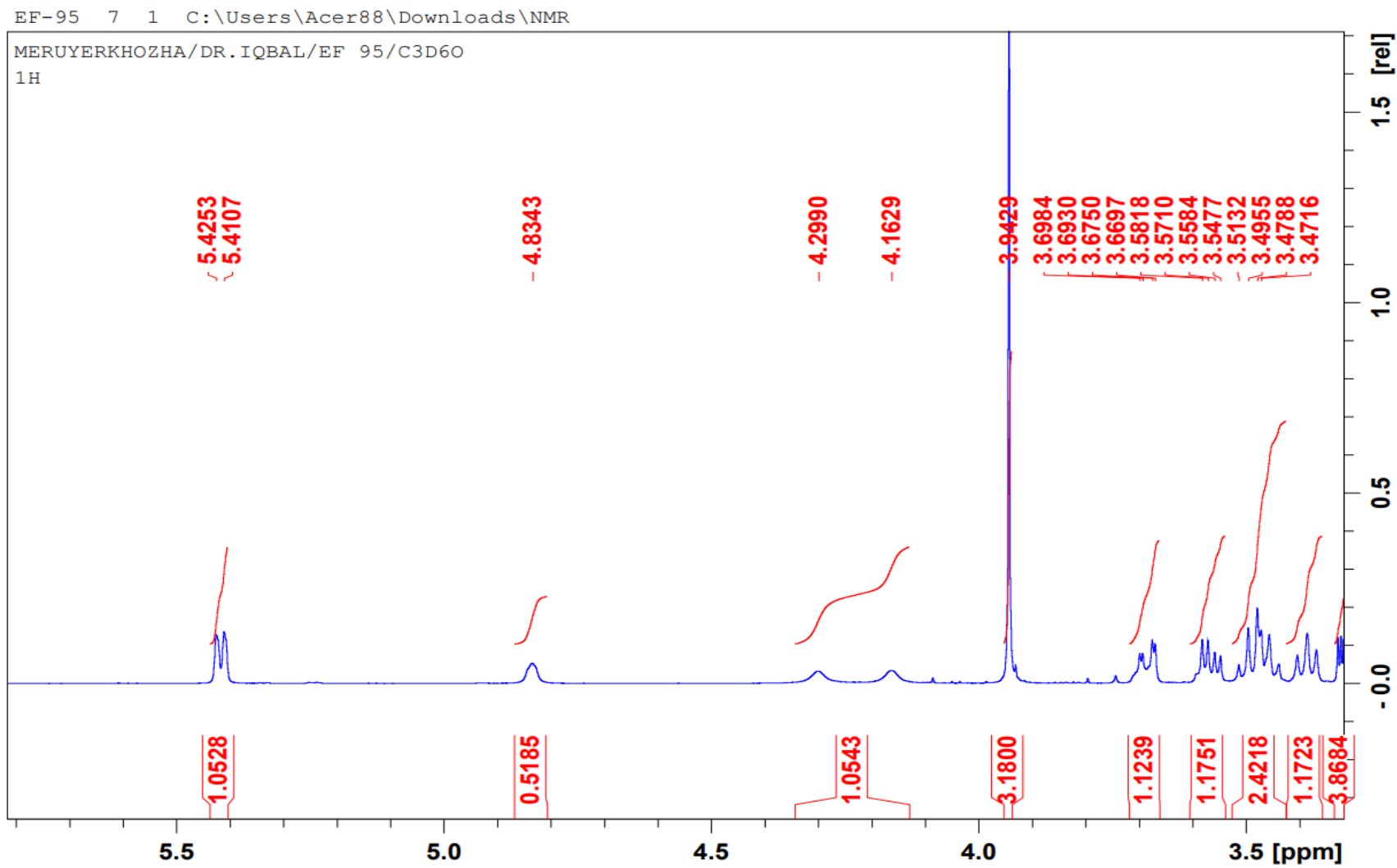
Д1 – Сурет. Изорамнетиннің 3-О-β-D-глюкозидінің <sup>1</sup>H-ЯМР спектрі (19-зат)

## ҚОСЫМША Д2



Д2 – Сурет. Изорамнетиннің 3-О-β-D-глюкозидінің <sup>1</sup>H-ЯМР спектрі (19-зат)

# ҚОСЫМША ДЗ



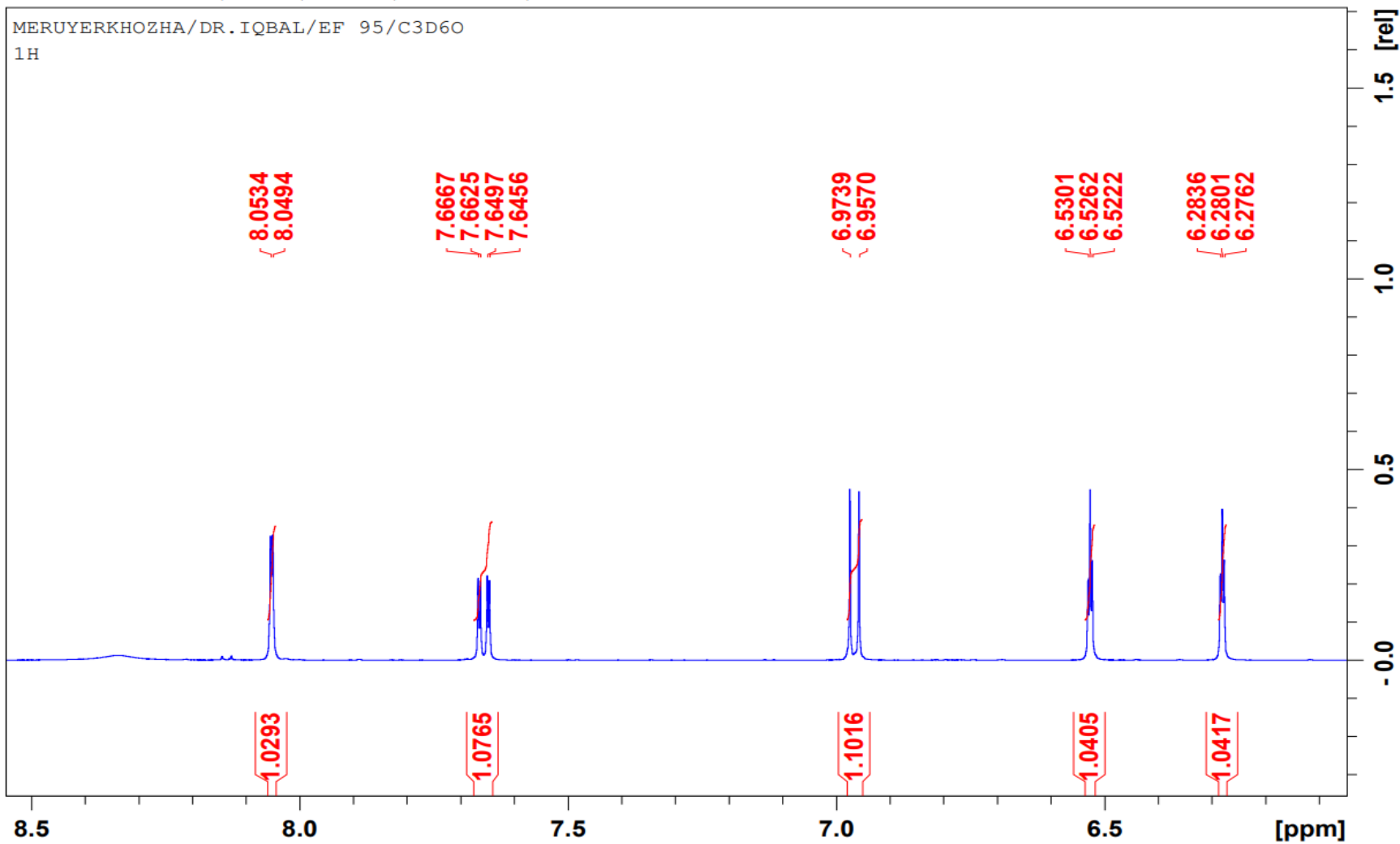
ДЗ – Сурет. Изорамнетиннің 3-О-β-D-глюкозидінің <sup>1</sup>H-ЯМР спектрі (19-зат)

# ҚОСЫМША Д4

EF-95 7 1 C:\Users\Acer88\Downloads\NMR

MERUYERKHOZHA/DR.IQBAL/EF 95/C3D60

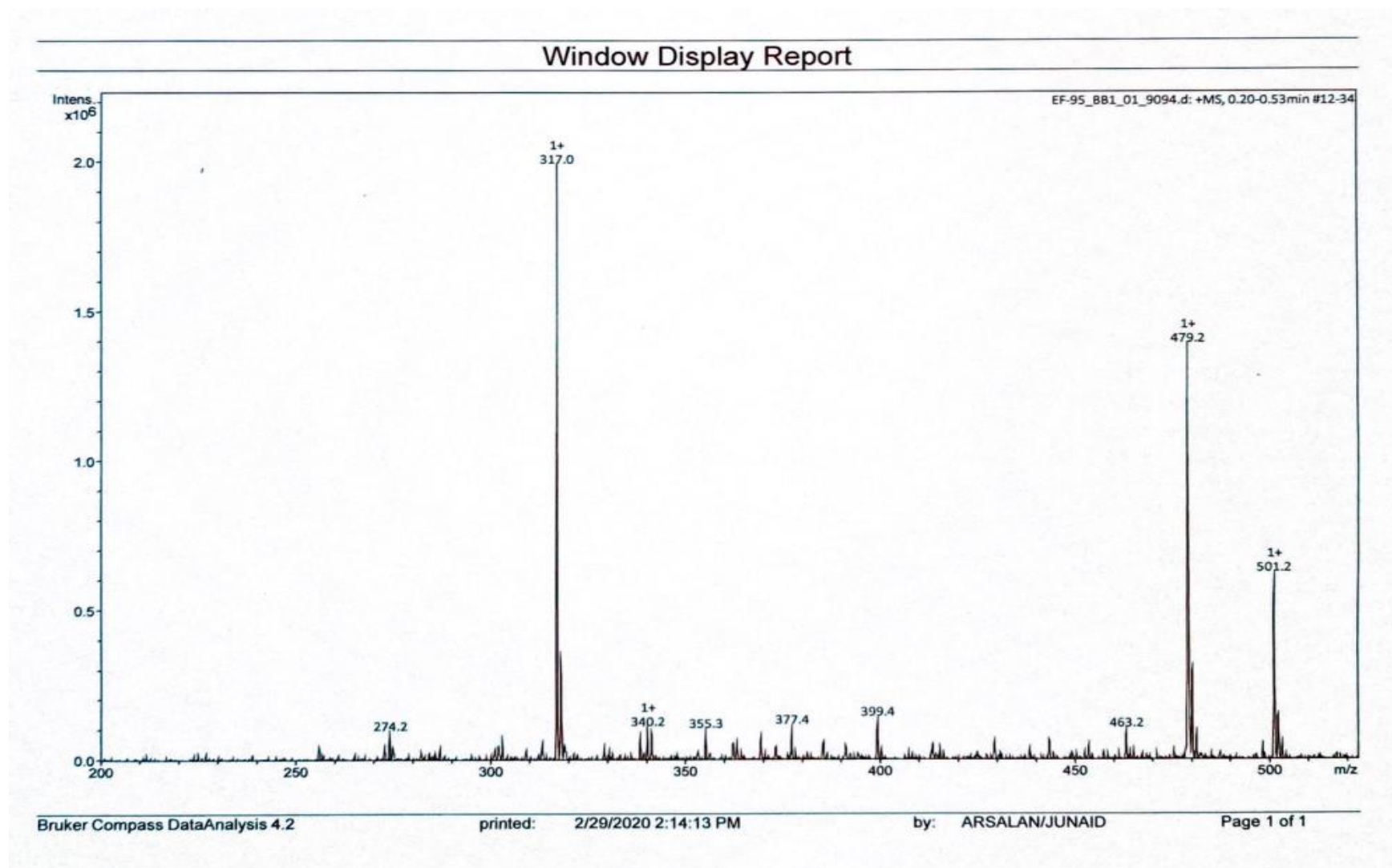
<sup>1</sup>H



Д4 – Сурет. Изорамнетиннің 3-О-β-D-глюкозидінің <sup>1</sup>H-ЯМР спектрі (19-зат)

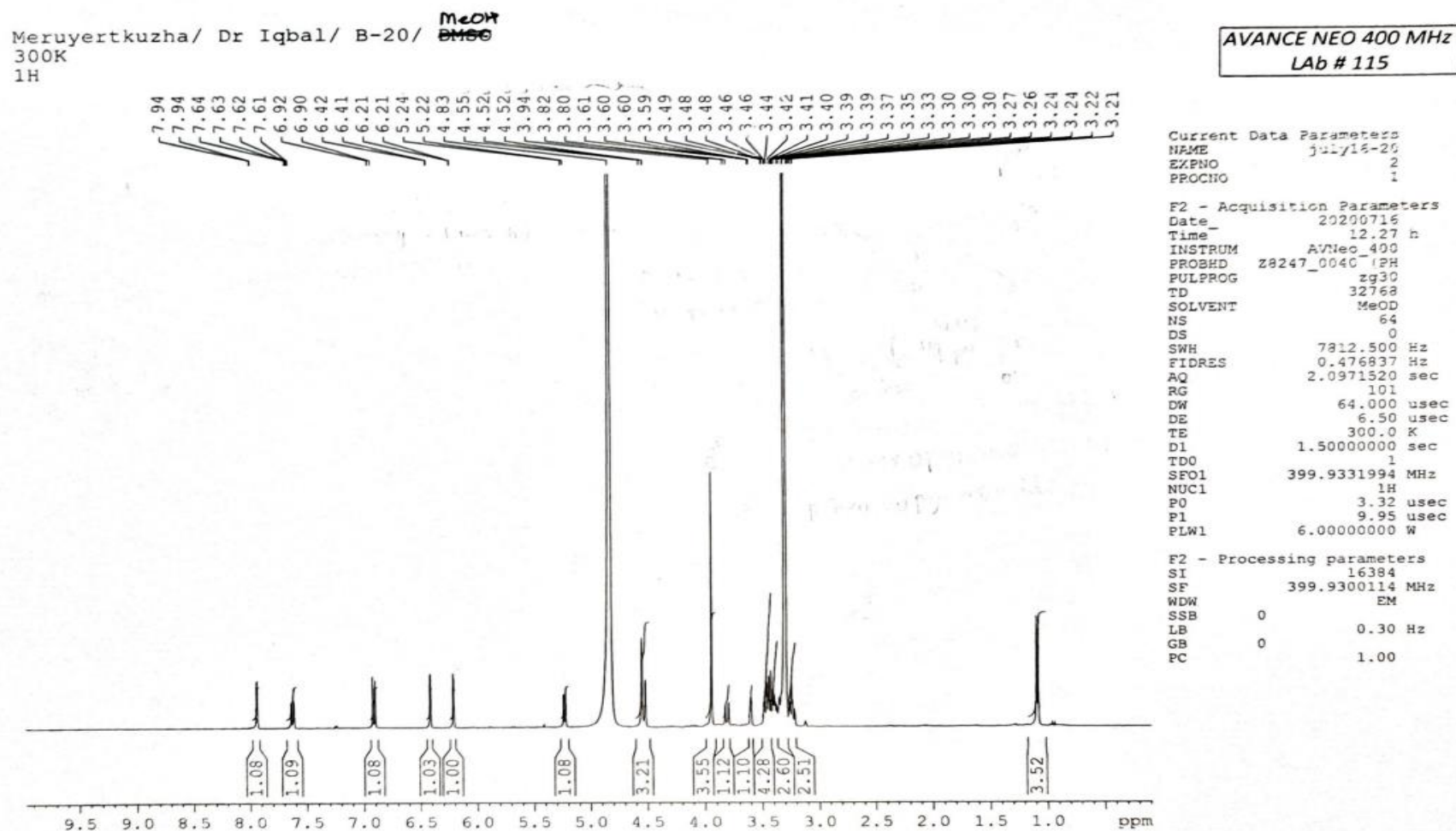


## КОСЫМША Ж



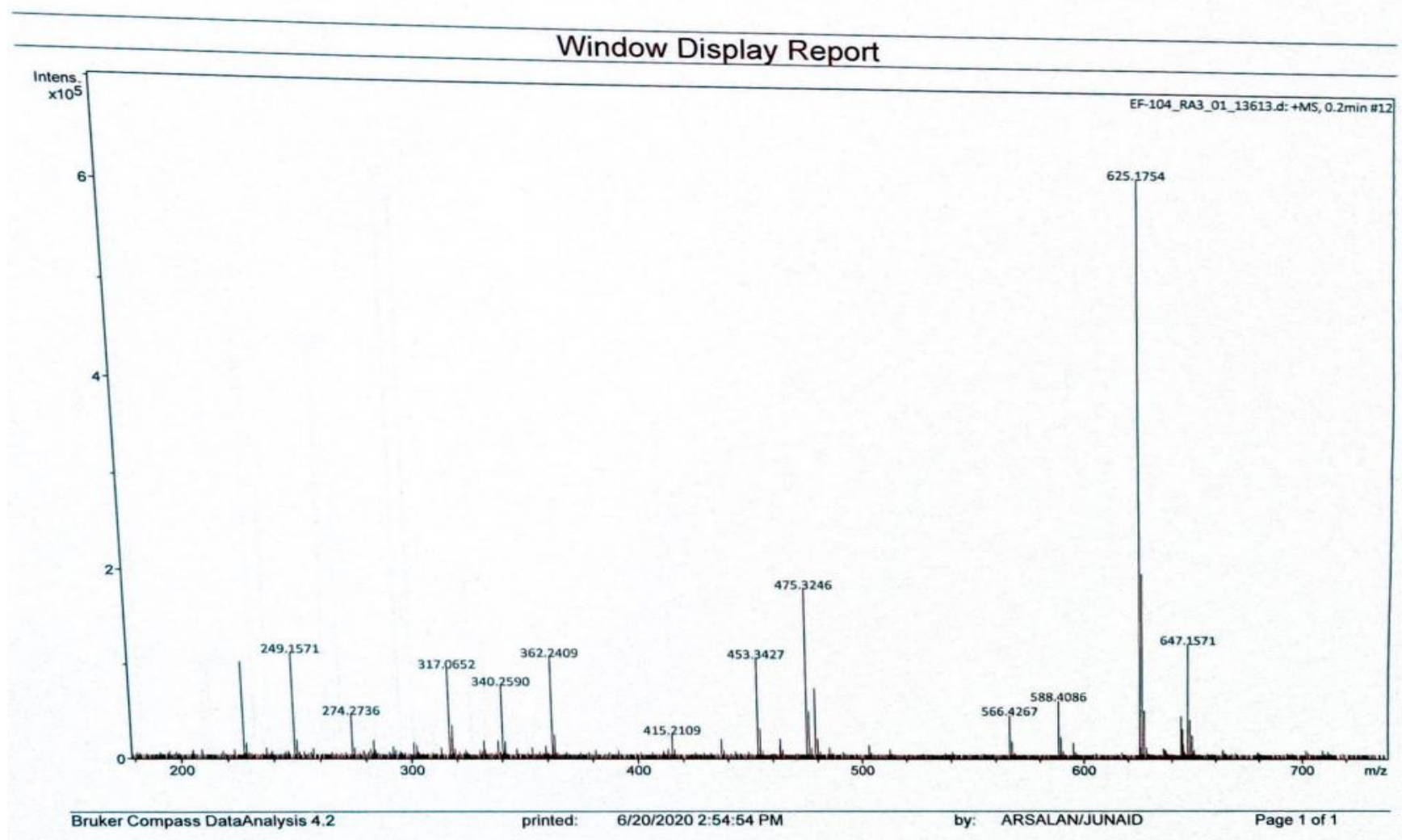
Ж – Сурет. Изорамнетиннің 3-О-β-D-глюкозидінің ESI-MS спектрі (19-зат)

### КОСЫМША 3



3 – Сурет. Изорамнетиннің-3-О-β-D глюкопиранозил (6→1)-α-L- рамнопранозидінің <sup>1</sup>H-ЯМР спектрі (21-зат)

## ҚОСЫМША И



И – Сурет. Изорамнетиннің-3-О-β-D глюкопиранозил (6→1)-α-L- рамнопронозидінің ESI-MS спектрі (21-зат)

# КОСЫМША К

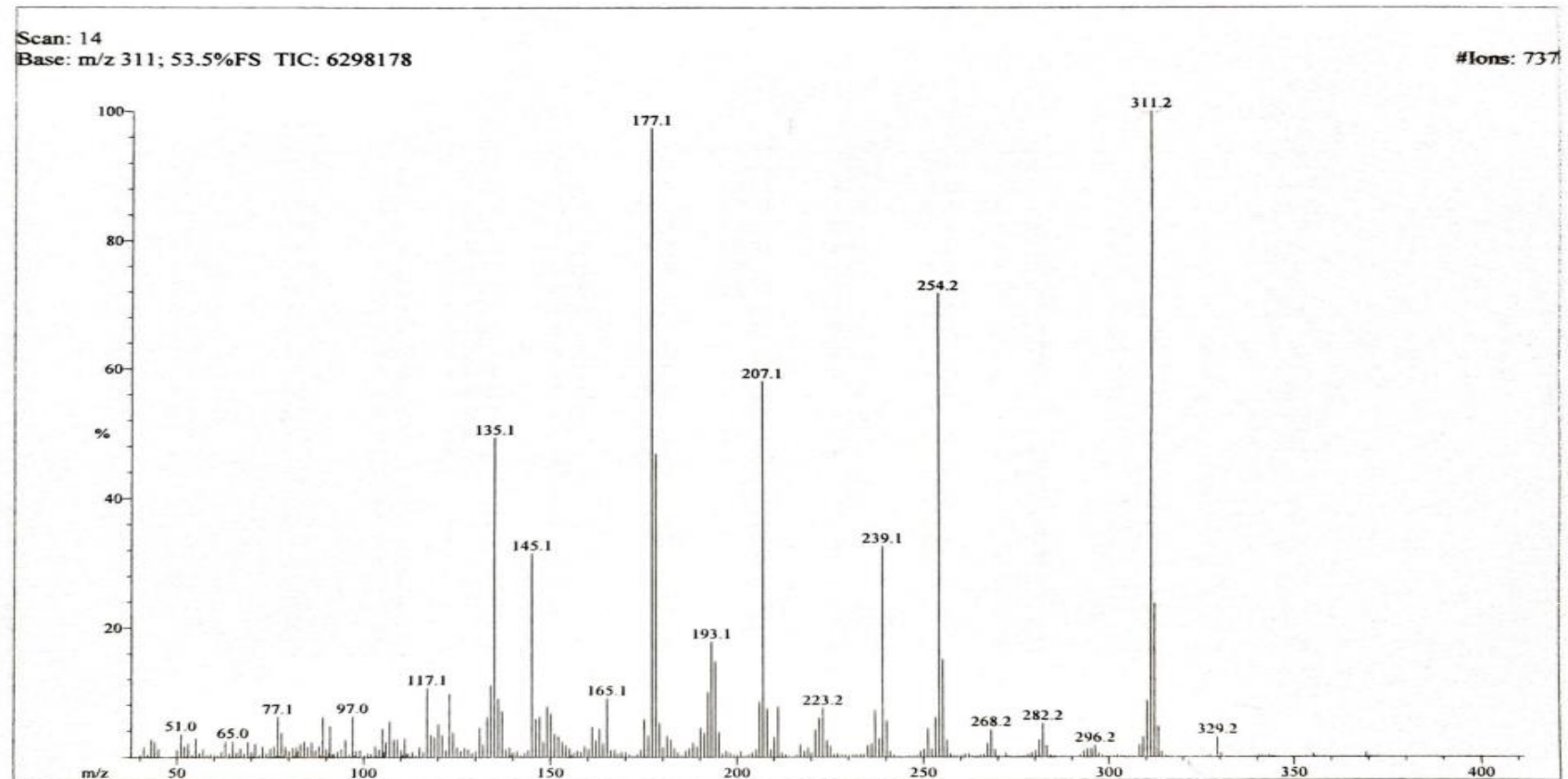
HEJ-ICCBS  
2/17/2020 4:25:50 PM

File: EF89-2  
Sample: MERUYERTKOZHA/DR. IQBAL  
Instrument: JEOL 600H-1  
Inlet: Direct Probe

Date Run: 02-17-2020 (Time Run: 15:32:02)

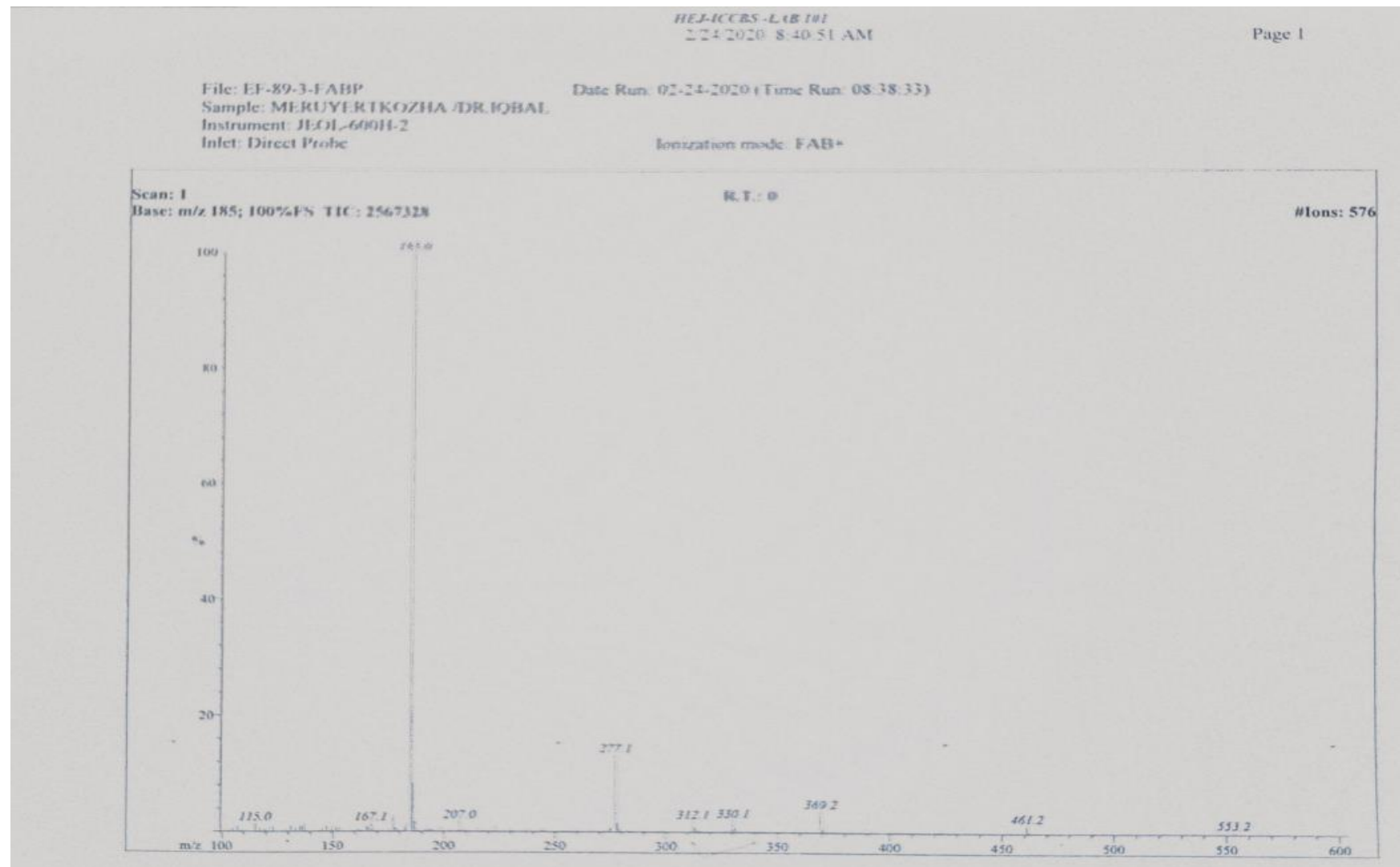
Run By: MASS LAB-104

Ionization mode: EI+



К – Сурет. N-цис-ферулоиллоктопаминнің EI-MS спектрі (16-зат)

## ҚОСЫМША Қ



Қ – Сурет. *N*-транс-ферулоилоктопаминнің FAB-MS спектрі (17-зат)

# КОСЫМША Л

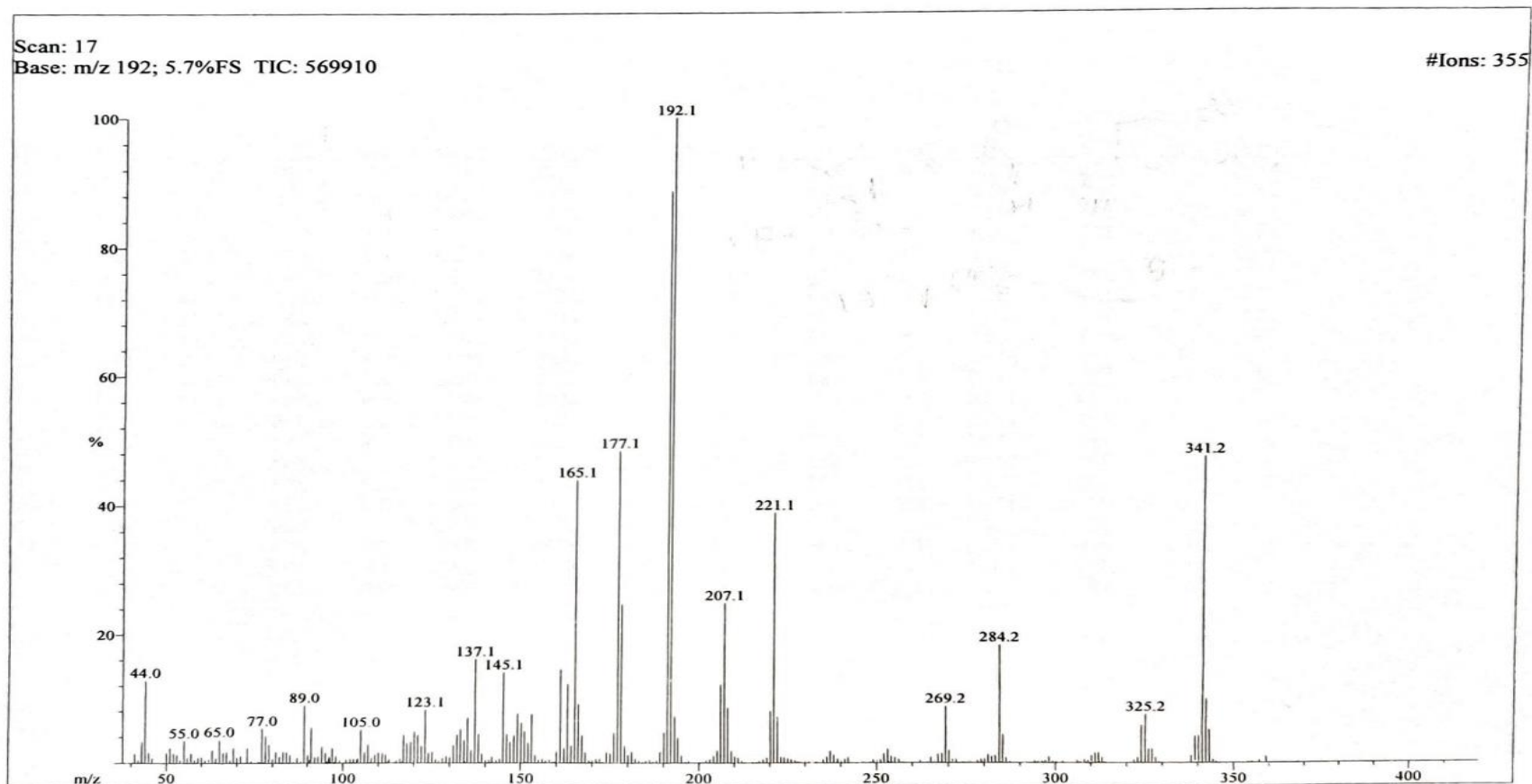
HEJ-ICCBS  
2/17/2020 4:22:34 PM

File: EF-89-4  
Sample: MERUYERTKOZHA /DR. IQBAL  
Instrument: JEOL 600H-1  
Inlet: Direct Probe

Date Run: 02-17-2020 (Time Run: 16:13:50)

Run By: MASS LAB-104

Ionization mode: EI+



Л – Сурет. N-[2-(3,4-гидроксифенил)-2-гидроксиэтил]-3-(3,4-метоксифенил)-проп-2-энамидтің EI-MS спектрі (18-зат)



# КОСЫМША М

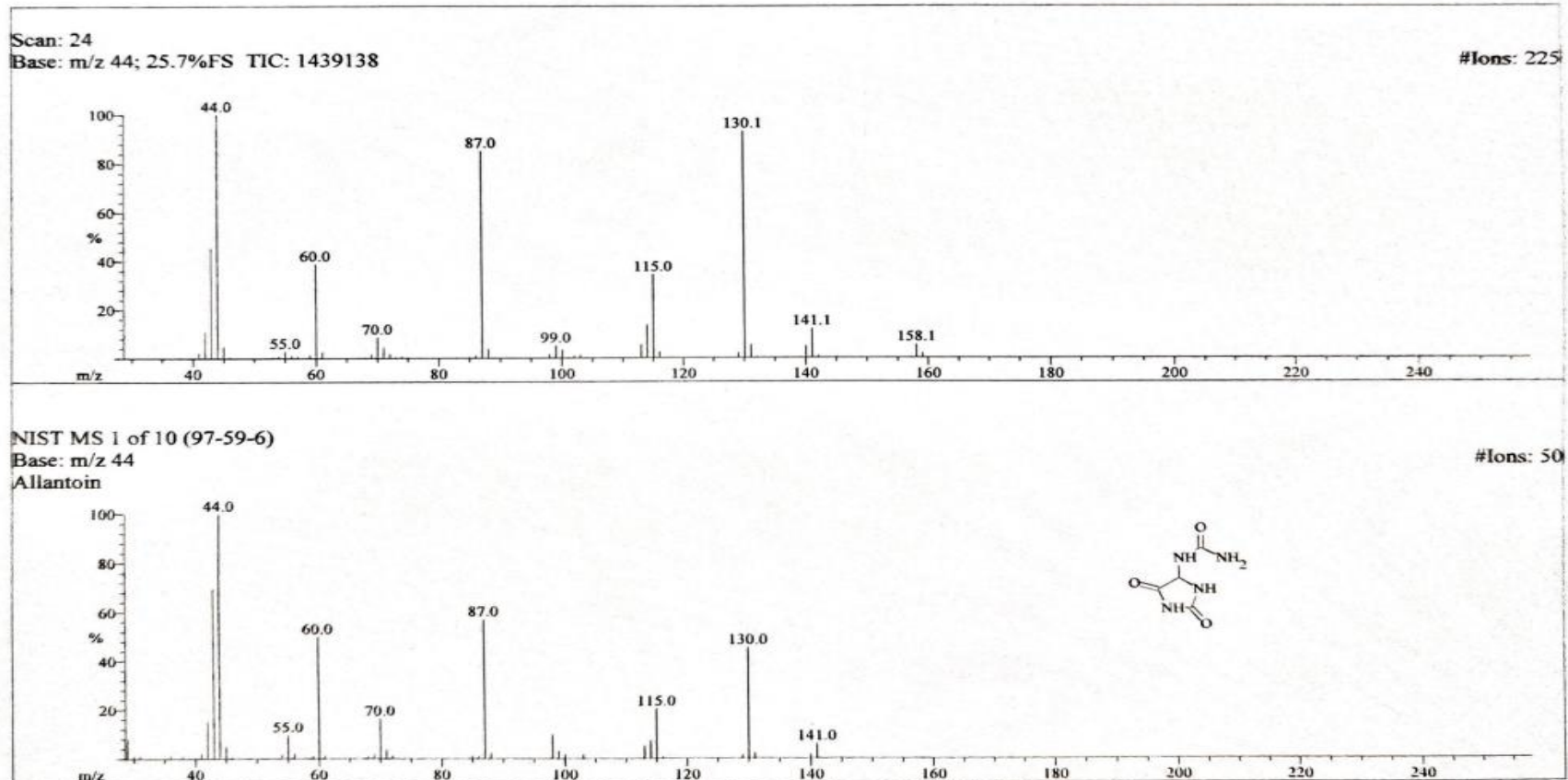
HEI-ICCBS  
2/19/2020 9:26:21 AM

File: EF-98  
Sample: MERUYERTKOZHA /DR. IQBAL  
Instrument: JEOL 600H-1  
Inlet: Direct Probe

Date Run: 02-06-2020 (Time Run: 15:07:33)

Run By: MASS LAB-104

Ionization mode: EI+



М – Сурет. Аллантоинның EI-MS спектрі (22-зат)